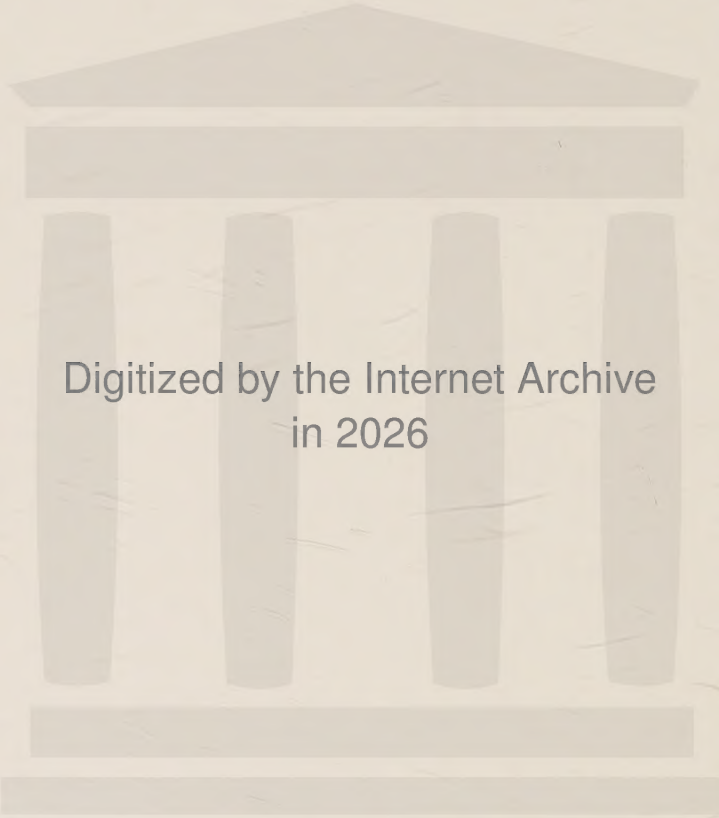


**Computerunterstützte
Motilitätsmessung an Ebersamen
aus der Künstlichen Besamung**

Kai Reibenwein

Disbui. München

1989



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554801_0110

Aus der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Lehrstuhl: Prof. Dr. W. Leidl

Computerunterstützte Motilitätsmessung an
Ebersamen aus der Künstlichen Besamung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Kai Reibenwein

aus

Nürnberg

1989

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Univ.-Prof. Dr. W. Leidl

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. H. Berner

Tag der Promotion: 28. Juli 1989

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1 Einleitung	1
2 Literatur	2
2.1 Meßgenauigkeit objektiver Auswertungssysteme	2
2.2 Vergleich der Motilitätsschätzung mit Computermessung	3
2.3 Flüssigkonservierung von Ebersperma	4
2.4 Eigenschaften von Eberspermatozoen	6
2.4.1 Bewegungsform	6
2.4.2 Geschwindigkeit	7
2.5 Beziehung zwischen Motilitätsparametern und Fruchtbarkeit	9
3 Untersuchte Tiere und Methoden	10
3.1 Untersuchte Tiere	10
3.2 Probengewinnung	10
3.3 Probenlagerung	12
3.4 Videoaufzeichnung	13
3.4.1 Geräte	13
3.4.2 Aufzeichnungen	13
3.5 Erfassung subjektiver Schätzwerte	14
3.6 Computerunterstützte Motilitätsmessung	15
3.6.1 Geräte	15
3.6.2 Meßprinzip	15
3.7 Überprüfung des Auswertungsprogramms	18

3.8	Statistische Methoden	19
4	Ergebnisse	20
4.1	Überprüfung der Meßgenauigkeit	21
4.2	Parameter für die Auswertung von Ebersperma	24
4.3	Vergleich Schätzungswerte mit Computerwerten	27
4.4	Einfluß der Lagerungszeiten auf verschiedene Parameter der Spermienmotilität	28
4.4.1	Anteile von vorwärts-, orts- und unbeweglichen Spermien	28
4.4.2	Bewegungsform der Spermien	31
4.4.3	Geschwindigkeit der Spermien	35
4.5	Einfluß der Zugabe von "Nachverdünner" auf verschiedene Parameter der Spermienmotilität	37
4.5.1	Anteile von vorwärts-, orts- und unbeweglichen Spermien	37
4.5.2	Bewegungsform der Spermien	39
4.5.3	Geschwindigkeit der Spermien	40
4.6	Beziehung zwischen Motilitätsparametern in den Ejakulaten und der durchschnittlichen Ferkelzahl	41
5	Diskussion	47
6	Zusammenfassung	56
7	Summary	59
8	Literaturverzeichnis	61

1 Einleitung

Die steigende Anzahl an Erstbesamungen in der Künstlichen Besamung des Schweines in Bayern verlangt nach genaueren Methoden der Spermabeurteilung bei gleichem Zeitaufwand. Diese Forderung kann nur durch innovative Techniken bei der Samenuntersuchung erfüllt werden. Wichtige Kriterien wie die Geschwindigkeit der Spermien konnten bisher nicht routinemäßig erfaßt werden. Die computergesteuerte Bildanalyse in Verbindung mit der Videomikrographie (CVM) weist einen Weg in Richtung einer genaueren Motilitätsbeurteilung durch Erfassung wesentlicher Bahnparameter. Erfahrungen mit diesem System beschränken sich aber bisher fast ausschließlich auf den Einsatz beim Bullen. Die Anwendung des CVM-Verfahrens bei der Beurteilung von Eberspermien in der Künstlichen Besamung war Gegenstand dieser Arbeit. Zusätzlich wurden die Beziehungen zwischen einzelnen Kriterien für die Spermienmotilität und dem Befruchtungsvermögen der entsprechenden Ejakulate untersucht.

2 Literatur

2.1 Meßgenauigkeit objektiver Auswertungssysteme

AMANN und HAMMERSTEDT (1980) überprüften die Meßgenauigkeit eines objektiven Auswertungssystems, indem sie Samenproben mit guter Motilität mit einem definierten Anteil von abgetöteten Samenzellen mischten. Zur Abtötung wurden die Spermien in flüssigem Stickstoff schockgekühlt. Für diese Untersuchungen wurde Bullensperma verwendet. Die Korrelation zwischen dem Mischungsverhältnis unbeweglicher Spermien zu motilen Spermien und der Gesamtmotilität war sehr hoch (Korrelationskoeffizient $r = 0,94$). MAKLER (1979) beschritt einen anderen Weg zur Inaktivierung von Humansperma. Hier wurden die Proben auf 50 - 60°C erhitzt und dann in verschiedenen Verhältnissen unbehandelten Samenproben beigemischt. Bei dieser Methode blieb ein Rest von 2% lebenden Spermien erhalten.

SCHRÖPPEL (1988) verband beide Methoden durch zweimaliges Abkühlen in flüssigem Stickstoff, jeweils gefolgt von einer Erhitzung der Probe auf 50°C. Die mikroskopische Beurteilung ergab, daß alle Samenzellen unbeweglich waren. Das so inaktivierte Sperma wurde unbehandelten Proben im Verhältnis 0%, 50% und 75% beigemischt. Die Korrelationskoeffizienten zwischen den Computerwerten und den erwarteten Werten für den Anteil vorwärtsbeweglicher Zellen ergaben für den Eber $r = 0,94$, für den Hengst $r = 0,98$ und für Bulle, Schaf- bzw. Ziegenbock $r = 0,99$.

2.2 Vergleich der Motilitätsschätzung mit Computermessungen

O'CONNOR und Mitarbeiter (1981) arbeiteten mit 38 Ejakulaten von 10 Holstein-Friesian Bullen. Sie verglichen die Motilität mit der Computerauswertung vor dem Tiefgefrieren und nach dem Auftauen. Vor dem Tiefgefrieren ergab sich ein Korrelationskoeffizient von $r = 0,66$ ($p < 0,01$), sofort nach dem Auftauen und 3 Stunden nach dem Auftauen von $r = 0,46$ ($p < 0,01$) und von $r = 0,71$ ($p < 0,01$). Der Fehler der Computerauswertung war bei Ejakulaten mit weniger als 50% motiler Spermien höher als bei Ejakulaten mit einer Motilität über 50%. GSCHWEND (1986) verglich den geschätzten Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Bullenspermien mit dem Ergebnis der Handmeßmethode (KATZ und OVERSTREET, 1981; RIEMKE, 1984) und dem Ergebnis der Computerauswertung und fand eine positive Korrelation von $r = 0,48$ und $r = 0,44$ ($p < 0,01$). Die Werte beider "objektiven" Methoden wichen im Einzelfall erheblich von den Schätzwerten ab. Die Steigung der Regressionsgerade zeigte, daß die Schätzwerte der vorwärtsbeweglichen Spermien größtenteils unter den Werten der "objektiven" Verfahren lagen. WALKER und Mitarbeiter (1982) verglichen Schätzwerte von Ebersperma mit Computerauswertungen. Verwendet wurde die Spektrophotometrie (ATHERTON, 1975) bei 8 Samenproben. Der Mittelwert mit Standardabweichung für den Prozentsatz motiler Spermien lag bei der Computeranalyse mit $66,0\% \pm 27,22$ über dem Schätzwert mit $50,0\% \pm$

28,57 (jeweils $\bar{x} \pm s$). Es bestand eine positive Korrelation von $r = 0,84$. Für den Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien ergab sich für die Computeranalyse ein Mittelwert mit Standardabweichung von $34,5\% \pm 24,52$ gegenüber $28,7\% \pm 21,27$ bei der Schätzung. Der Korrelationskoeffizient betrug $r = 0,90$.

AUMÜLLER und Mitarbeiter (1987) fanden in ihrer Arbeit mit Ebersamen eine gute Übereinstimmung der Mittelwerte von Schätzung ($84,5\% \pm 7,0$) und den Ergebnissen einer computerunterstützten Motilitätsbeurteilung mit dem von MATHUR und Mitarbeitern (1986) verwendeten "Cell-Soft-System" ($84,2\% \pm 12,0$), jedoch bestand keine signifikante Korrelation zwischen den Einzelwerten beider Methoden ($r = 0,09$).

2.3 Flüssigkonservierung von Ebersperma

HAEGER und MÄCKLE (1971) entwickelten auf der Basis eines an der Besamungsstation Kiew (UdSSR) eingesetzten Verdünners einen Zweiphasenverdünner zur Schweinebesamung. Dieser Verdünner ist auch unter den Namen "Varohm-Verdünner", "Kiew-Verdünner" und "Merck-Verdünner" bekannt und im Handel erhältlich (Fa. Merck, Darmstadt).

Der Verdünner weist folgende Zusammensetzung auf:

Hauptverdünner

6,000 g Glukose
 0,370 g Äthylen-Diamintetraacetat-Dinatriumsalz
 0,120 g Natriumbicarbonat
 0,375 g Trinatriumcitrat-2-Hydrat
 100,000 ccm Aqua bidest.
 50 000 i.E. Penicillin-G-Natrium
 50,000 mg Dihydrostreptomycinsulfat

Nachverdünner

2,428 g Trinatriumcitrat-2-Hydrat
 0,210 g Natriumbicarbonat (Natriumhydrogencarbonat)
 0,040 g Kaliumchlorid
 0,300 g Sulfanilamid
 0,300 g D-Glukose
 100,000 ccm Aqua bidest

Zunächst wird das gewonnene, Gel-freie Ejakulat mit +32°C warmem Hauptverdünner vermischt. Es ist darauf zu achten, daß sich das Ejakulat bis zur Verdünnung nicht unter +32°C abkühlt. Die Verdünnung kann im Verhältnis 1+3 bis 1+8 vorgenommen werden. Sie sollte 1+10 nicht überschreiten, weil sonst die Lebensdauer der Spermien deutlich herabgesetzt wird. Der Samen wird innerhalb einer Stunde auf +20°C bis +22°C abgekühlt. Bei dieser Temperatur bleibt er 3 - 4 Tage einsatz-



fähig. Vor der Besamung wird die Samenportion mit $+30^{\circ}\text{C}$ bis $+35^{\circ}\text{C}$ warmem Nachverdünner vermischt. Die 60 - 90 Tage Non-Return-Rate von 9 Ebern lag für Besamungen am Tag 1 bei 81,7%, (2634 EB) am Tag 2 bei 81,9% (937 EB) und am Tag 3 bei 82,8% (134 EB); (HAEGER und MÄCKLE, 1971). SIMMET (1974) führte Versuche durch, den "Kiew-Verdünner" ohne Nachverdünner zu verwenden und kam zu dem Ergebnis, daß die damit erzielten Wurfgrößen denen im Natursprung vergleichbar waren. HEYDORN und PAUFLER (1975) verglichen die Einphasen-, und Zweiphasenmethode im monatlich wechselnden Einsatz. Bei Altsauen wurden 72% (2-Phasen, $n = 41$), bzw. 74% (1-Phase, $n = 54$) und bei Jungsauen 58% (2-Phasen, $n = 57$), bzw. 48% (1-Phase, $n = 46$) tragend. Die Differenz zwischen der Ein- und Zweiphasenmethode war statistisch nicht signifikant.

2.4 Eigenschaften von Eberspermatozoen

2.4.1 Bewegungsform

Im Gegensatz zu Bullenspermien ist bei Eberspermien eine kreisförmige bzw. nicht lineare Vorwärtsbewegung als physiologisch anzusehen (MASSANYI, 1977; MÜLLER und BRANDL, 1975; SHIMIZU und MATSUMOTO, 1977; WEBER et al., 1980). AUMÜLLER und Mitarbeiter (1987) fanden in ihrer Arbeit mit einem computergesteuerten Auswertungssystem im Mittel 15,3%

Spermien mit Kreisbewegung. Angaben über die Kriterien für Kreisbewegung wurden nicht gemacht. SCHRÖPPEL (1988) benennt den Anteil der nicht geradlinig bzw. kreisförmig schwimmenden Spermien mit 35,3% bzw. 30,9% aller vorwärtsbeweglichen Samenzellen. Grundlage der Einteilung in verschiedene Bewegungsformen bei fotogrammetrischen Methoden und dem CVM-Verfahren ist der Quotient aus der geraden Verbindung der Position bei Meßbeginn und Meßende und der tatsächlich zurückgelegten Wegstrecke der Samenzelle. Nach der Definition von SCHRÖPPEL (1988) entspricht ein Wert $> 0,8$ einer linearen Bewegung, zwischen $0,6 - 0,8$ einer nicht geradlinigen Bewegung und bei einem Quotienten von $< 0,6$ wird von einer Kreisbewegung gesprochen. Die kreisförmige Bewegung scheint unabhängig von der Art des Samenverdünners und der Lagerungszeit zu sein (WEBER et al., 1980). MÜLLER und BRANDL (1975) beobachteten Kreisbewegungen auch dann, wenn zur Verdünnung des Ejakulates Samenplasma anderer Eber verwendet wurde. Ein Übergang der Kreisbewegung in eine lineare Bewegung, 20 - 30 min nach der Verdünnung, wie sie HAEGGER und MÄCKLE (1971) beschrieben haben, konnte von WEBER und Mitarbeitern (1980) nicht beobachtet werden.

2.4.2 Geschwindigkeit

GÖTZE (1949) nennt einen Wert von 3,6 mm/min für die Geschwindigkeit von Eberspermien. Umgerechnet auf die heute übliche

Einheit wären dies 60 $\mu\text{m}/\text{sek}$. MÜLLER und BRANDL (1975) geben in ihren Untersuchungen für frischen Samen eine Geschwindigkeit von 30 - 80 $\mu\text{m}/\text{sek}$ an. Werte über 50 $\mu\text{m}/\text{sek}$ wurden äußerst selten beobachtet. Die Geschwindigkeitsmessung erfolgte mit Hilfe der Fotogrammetrie, wobei die Fotoaufnahmen mit einer Belichtungsdauer von 0,5 sek erstellt wurden. Die Geschwindigkeit wurde dann aus der Bahnlänge im Verhältnis zur Beobachtungszeit errechnet. WEBER und Mitarbeiter (1980) ermittelten mit der gleichen Technik in verdünntem Samen Durchschnittsgeschwindigkeiten von 67,43 $\mu\text{m}/\text{sek}$ für Spermien unmittelbar nach der Verdünnung. Nach 6 bzw. 24 stündiger Lagerung bei +15°C sank die durchschnittliche Geschwindigkeit auf 57,95 $\mu\text{m}/\text{sek}$ bzw. 46,72 $\mu\text{m}/\text{sek}$. AUMÜLLER und Mitarbeiter (1987) gaben eine Geschwindigkeit von 49,5 $\mu\text{m}/\text{sek}$ mit einer Standardabweichung von 11,3 an. Diese Durchschnittsgeschwindigkeit wurde aus der Messung im Nativsamen sowie einer Messung in 4 verschiedenen Verdünnungen nach 1 und 2 Tagen Lagerungszeit berechnet. Die Auswertung erfolgte mit einem computergesteuerten Auswertungssystem, dem "Cellsoft automated semen analyzer". Zur Auswertung wurde ein Tropfen Sperma auf einen Objektträger aufgebracht und mit einem Deckglas abgedeckt. SCHRÖPPEL (1988) fand Geschwindigkeiten von $51,2 \pm 4,5$ $\mu\text{m}/\text{sek}$ für Eberspermien unmittelbar nach der Verdünnung mit "Kiew I" (HAEGER und MÄECKLE, 1971). Für verschiedene Bewegungsklassen ergaben sich folgende Werte: 59,3 $\mu\text{m}/\text{sek}$ für

geradlinig, 52,5 $\mu\text{m}/\text{sek}$ für nicht geradlinig und 41,7 $\mu\text{m}/\text{sek}$ für kreisförmig vorwärtsbewegliche Spermien. Die Proben wurden in einer 10 μm tiefen Zählkammer nach MAKLER (1980) untersucht. Zur Auswertung wurde ein Mikroprocessor-Bild-Analyse-Computer "µBAC 8810" (Version 1986 Fa. Brunner, München) verwendet.

2.5 Beziehung zwischen Motilitätsparametern und Fruchtbarkeit

WEBER und Mitarbeiter (1980) untersuchten 30 Ejakulate von 6 Ebern mittels Spermiofotogrammetrie. Pro Ejakulat wurden durchschnittlich 30 Spermien ausgewertet. Sie verglichen verschiedene Motilitätsparameter, wie Anteil beweglicher Zellen, Anteil der Zellen mit Kreisbewegung, Ortsbewegung sowie die Geschwindigkeit und den Radius der Samenzelle unmittelbar nach der Verdünnung mit der Non-Return-Rate (NRR). Eine signifikante Korrelation bestand zwischen dem Radius der Spermien und der NRR der Eber im Versuchszeitraum mit $r = 0,73$ ($p < 0,01$). AUMÜLLER und Mitarbeiter (1987) untersuchten je 9 Ejakulate von 5 Ebern sowohl nativ als auch im Split-Sample Verfahren mit 4 verschiedenen Verdünnern. Bei der Korrelation der Trächtigkeitsrate und den Wurfergebnissen von 389 Altsauen mit den Spermatdaten ergab sich keine signifikante Beziehung. Nach Meinung der Autoren ist damit eine Vorhersage des Befruchtungsvermögens nicht möglich.

3 Untersuchte Tiere und Methoden

3.1 Untersuchte Tiere

Für die Spermauntersuchung wurden insgesamt 50 Eber von 3 Besamungsstationen herangezogen. Mit 31 Tieren war die Rasse Piebtrain am stärksten vertreten, gefolgt von der Deutschen Landrasse mit 16 Tieren, dem Deutschen Edelschwein mit 2 Tieren sowie einem Eber der Belgischen Landrasse. Es handelte sich um Jungeber im Alter von 9 - 12 Monaten. Die Tiere waren gesund. Ihr Samen wurde im Versuchszeitraum Februar bis August 1987 von den Besamungsstationen regelmäßig in der Künstlichen Besamung eingesetzt.

3.2 Probengewinnung

Die Spermagewinnung erfolgte stets durch das Stationspersonal. Jede Station erfaßte unter anderem auch die Spermienkonzentration und das Volumen des Ejakulates. Aus dem noch unverdünnten Sperma wurde 1 ml in ein 10 ml Probenröhrchen pipetiert und darin auf eine Dichte von ca. 50000 Spermien pro mm^3 verdünnt. Zur Anwendung kam +32°C warmer Verdünner der Fa. Merck, (Verdünnermischung I für Ebersamen; Zusammensetzung entspricht "Hauptverdünner", Seite 5), der auch im Routineeinsatz von der Station zur Samenverdünnung verwendet wurde.

(Stationsverdünnung). Die Menge der Verdünnerzugabe richtete sich nach der von der Station zuvor bestimmten Konzentration im Sperma. Ein Teil der verdünnten Samenprobe wurde in ein 1,5 ml Eppendorfgefäß abgefüllt (Kontrollverdünnung, Tab. 1). Bei einer Besamungsstation wurden zwei Eppendorfgefäße mit Kontrollverdünnung gefüllt (Kontrollverdünnung 1 und Kontrollverdünnung 2, Tab. 2). Zusätzlich wurden aus dem von der Station verdünnten Sperma 1,5 ml in ein Eppendorfgefäß pipettiert und verschlossen (Stationsverdünnung). Die Proben wurden aus dem gut durchgemischten endverdünnten Ejakulat, vor der Abfüllung in einzelne Portionen, entnommen. Da eine Besamungsstation mit Nachverdünner arbeitete, wurden an dieser Station jeweils 15 Minuten vor der Videoaufzeichnung 0,2 ml der Stationsverdünnung mit 0,2 ml +32°C warmem Nachverdünner versetzt und bis zur Beurteilung (ca. 15 min) in einem 1,5 ml Eppendorfgefäß gelagert (Stationsverdünnung mit Nachverdünner).

Tab. 1: Lagerungszeit und Lagerungstemperaturen bis zur Videomikrographie-Aufzeichnung der Spermienmotilität der Stations- und der Kontrollverdünnung.

Lagerungs- zeit in Stunden	Station A und C	
	Stationsverd.	Kontrollverd.
1	+20° C	+20° C
6	+15° C	+15° C
24	+15° C	+15° C

Tab. 2: Lagerungszeit und Lagerungstemperaturen bis zur Videomikrographie-Aufzeichnung der Spermienmotilität der Stationsverdünnung ohne und mit Nachverdünner sowie der beiden Kontrollverdünnungen.

Lagerungs- zeit in Stunden	Station B			
	Stationsverd.		Kontrollverd.1	Kontrollverd.2
1	+20° C	+20° C*	+20° C	----
6	+20° C	+20° C*	+15° C	----
24	+20° C	+20° C*	+15° C	+20° C

* mit Nachverdünner, Zusatz 15 Minuten vor der Aufnahme

3.3 Probenlagerung

Die Aufbewahrung der Proben folgte den stationsüblichen Methoden. "Stationsverdünnung" und "Kontrollverdünnung" wurden bei allen Stationen bis zur ersten Videoaufnahme, die eine Stunde nach der Verdünnung erfolgte, bei Raumtemperatur gelagert. Das von der Besamungsstation verdünnte Sperma lagerte danach auf zwei Stationen bei +15° C im Kühlschrank (A und C), auf der dritten Station (B) weiter bei Raumtemperatur. Die Kontrollverdünnung wurde an allen Stationen bei +15° C aufbewahrt. Bei einer Station wurden die Proben der Kontrollverdünnung geteilt; die geteilten Proben lagerten bei Raumtemperatur bzw. bei +15° C (Station B).

3.4 Videoaufzeichnung

3.4.1 Geräte

Für die Videoaufnahmen der Spermienmotilität wurden folgende Geräte verwendet:

- Mikroskop, Typ 'Optiphot' mit Objektiv 20 DLL PH(2) Plan, Phasenkontrastkondensor, (Fa. Nikon) eingebauter Heiztisch, separater Heiztisch HT 100, (Fa. Minitüb, Landshut)
- Schwarz-Weiß-Kamera RCA 2000, (Fa. RCA)
- Titelgenerator FOR.A VTW-100, (Fa. FOR.A Co LTD, Tokyo)
- Schwarz-Weiß-Monitor RCA TC 1910X, (Fa. RCA)
- Videorecorder Panasonic AG-6200, (Fa. Panasonic)
- Zählkammer nach Makler (10µm), (Fa. Sefi Medical Instruments, Haifa, Israel)
- VHS-Videokassetten Fuij SHG E-180, (Fa. Fuij Photo Film Co., LTD. Tokyo)

3.4.2 Aufzeichnungen

Die auf +38°C vorgewärmte Makler-Kammer wurde mit einer Pasteurpipette beschickt und das Deckglas nach ca. 20 sek aufgelegt. Die Kammer wurde auf den beheizten Mikroskoptisch (+38°C) gelegt. Anschließend wurden 3 verschiedene Gesichtsfelder jeweils 8 Sekunden lang aufgezeichnet. Dann wurde die

Kammer mit Aqua dest. gereinigt, getrocknet und mit einem Tropfen aus derselben Probe neu gefüllt. Dieser Vorgang wurde 5 mal wiederholt, d.h., insgesamt wurden von einer Probe Videoaufzeichnungen von 15 verschiedenen Gesichtsfeldern angefertigt. Die Kennzeichnung der Proben erfolgte durch Einblenden einer Beschriftung in das Videobild. Die Spermienmotilität wurde eine Stunde, 6 Stunden und 24 Stunden nach der Verdünnung auf Videoband aufgezeichnet. Der Vorgang nahm pro Probe ca. 10 Minuten in Anspruch. Während dieser Zeit lagerte die Probe bei Raumtemperatur.

3.5 Erfassung subjektiver Schätzwerte

Die Videoaufnahmen der "Stationsverdünnung" wurden von den für die Verarbeitung des Ebersamens verantwortlichen Personen am Monitor subjektiv beurteilt. Dafür wurden die ersten 3 aufgezeichneten Gesichtsfelder jedes Ejakulates herangezogen. Bewertet wurde nur der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien.

3.6 Computerunterstützte Motilitätsmessung

3.6.1 Geräte

Folgend Geräte wurden zur Auswertung der Videobänder verwendet:

- Personal-Computer Typ AT (Festplatte 20MB), (Fa. IBM)
- Mikroprozessor-Bildanalyse-System AT-CAS 188
(Fa. Brunner, München)
- Software Version IC1 vom 30.10.1987
(Fa. Brunner, München)
- SPSS/PC+ -Software (Fa. SPSS GmbH, München)
- SPSSCELL -Software (Fa. Brunner, München)
- Schwarz-Weiß-Monitor RCA TC 1910X, (Fa.RCA)
- Videorecorder Panasonic AG-6200, (Fa.Panasonic)
- Drucker FX-80, (Fa. Epson)

3.6.2 Meßprinzip

Das Erkennen der Samenzellen erfolgt an einem digitalisierten Videobild mit 256 Graustufen. Die Bewegungsabläufe werden aus mehreren, aufeinander folgenden Bildsequenzen gemessen. Dazu dienen 16 Bilder im Abstand von 40 msek. Jedes Bild wird in 512 mal 512 Punkte zerlegt. Nach der Digitalisierung erfolgt in jedem Einzelbild eine Identifizierung der gesuchten Zellen.

Sie müssen in Größe, Kontrast und Mindestabstand zu anderen Objekten bestimmten Mindestanforderungen genügen. Gleichzeitig werden die Schwerpunktskoordinaten der Spermienköpfe in jedem Bild erfaßt. Eine Bewertung der Bewegung (Geschwindigkeitsmessung, Bestimmung der Bahnform) wird nur dann ausgeführt, wenn das einmal erkannte Objekt mindestens in den folgenden 8 Bildern wieder innerhalb eines Radius von $12,5\text{ }\mu\text{m}$ um den Schwerpunkt der letzten Identifikation gefunden wird. Die Programmversion IC1 mißt die Geschwindigkeit der Einzelzelle auf zwei unterschiedliche Arten. Die S-Klassifikation berechnet die mittlere Geschwindigkeit über eine fiktive Gerade vom Anfangs- zum Endpunkt der Erkennung ($\mu\text{m}/\text{sek}$). Im Gegensatz dazu berechnet die V-Klassifikation die mittlere Geschwindigkeit über eine Vektoraddition von Bild zu Bild ($\mu\text{m}/\text{sek}$). Dabei wird durch einen Rechenvorgang eine Glättung der Bahn vorgenommen. Als Lateral Head Displacement (LHD) oder Kopfschlagfrequenz wird die mittlere seitliche Abweichung des Spermienkopfes von der geglätteten Bahn in Abstufungen von $0,1\text{ }\mu\text{m}$ angegeben.

Der Radius der Bahn wird von 0 bis $255\text{ }\mu\text{m}$ in $1\text{ }\mu\text{m}$ -Schritten gemessen. Der maximale Wert, den der Radius annehmen kann, beträgt $255\text{ }\mu\text{m}$. Dies entspricht auf dem verwendeten Monitor mit $22,5\text{ cm}$ Bildschirmdiagonale einem Kreisradius von $127,5\text{ mm}$. Bei der verwendeten Gerätekonfiguration entspricht $1\text{ }\mu\text{m}$ in

der Horizontalen auf dem Bildschirm 0,5 mm. Das Verhältnis S zu V dient zur Bestimmung der Bahnform. Der Quotient $S/V(x100)$ kann Werte zwischen 0% und 100% annehmen. Werte ab 90% werden per definitionem als linear vorwärtsbewegliche Spermien gewertet, von 80% bis 89% gelten Spermien als nicht linear vorwärtsbeweglich und Werte kleiner 80% kennzeichnen Spermien mit einer kreisförmigen Bewegung. Die Gruppierung in vorwärtsbewegliche, orts-, und unbewegliche Spermien erfolgt nach ihrer Geschwindigkeit. Bei Bullensperma gelten definitionsgemäß Samenzellen, die sich mit einer Geschwindigkeit unter 10 $\mu\text{m}/\text{sek}$ bewegen, als unbeweglich, zwischen 10 $\mu\text{m}/\text{sek}$ und 29 $\mu\text{m}/\text{sek}$ als ortsbeweglich und ab 30 $\mu\text{m}/\text{sek}$ als vorwärtsbeweglich. Die vorwärtsbeweglichen Spermien werden einer der 3 Bahnformen linear, nicht linear und kreisförmig zugeordnet. Zur Überprüfung, ob die gleichen Geschwindigkeitsgrenzen auch beim Eber verwendet werden können, wurden Videoaufzeichnungen von je 2 Ejakulaten von 50 Ebern, die 1 Stunde nach der Verdünnung gemacht wurden, ausgewertet. Aus den Geschwindigkeiten der Einzelspermien wurde über das Statistikprogramm SPSSPC' eine Verteilungskurve erstellt. In dieser Arbeit wurde bis auf die Bewegungsform, die als Verhältnis von S zu V berechnet wird, für alle Geschwindigkeitsangaben nur die V-Klassifikation verwendet. Die gemessenen Geschwindigkeiten beziehen sich also auf den tatsächlich zurückgelegten Weg.

3.7 Überprüfung des Auswertungsprogramms

Zur Kontrolle des Computerprogramms hinsichtlich der Geschwindigkeitsmessung in der S-, und V-Klassifikation sowie der Messung der Kopfschlagfrequenz (LHD) und des Radius wurden gesonderte Videoaufnahmen erstellt. Auf ein weißes Blatt Papier der Größe DIN A4 wurden verschieden große Tuschepunkte aufgezeichnet. Mittels einer CNC-Werkzeugmaschine konnte diese Vorlage linear mit konstanten Geschwindigkeiten bewegt werden. Die so bewegten Tuschepunkte wurden mit einer Videokamera aufgezeichnet. Die Geschwindigkeit der Punkte wurde zum einen auf dem Monitor mit der manuellen Methode nach RIEMKE (1984), zum anderen mit der computergesteuerten Bildanalyse gemessen. Die Tuschepunkte stellen hierbei ein Modell für sich linear bewegendes Spermienköpfe mit konstanter Geschwindigkeit dar.

3.8 Statistische Methoden

Die Überprüfung der Meßgenauigkeit erfolgte durch Mehrfachmessung über die Berechnung der Variationskoeffizienten (RASCH, 1987). Für den Vergleich der Schätzwerte mit Computerwerten sowie für die Überprüfung der Beziehung zwischen Fruchtbarkeits- und Motilitätsparametern wurde eine Korrelationsanalyse durchgeführt (WEBER, 1964; MUDRA, 1958). Die Auswirkungen der Lagerungszeiten und der Verdünner wurden über eine Varianzanalyse und Scheffe-Test (Signifikanzschwelle $\alpha = 0,05$) überprüft. Verwendet wurde das Statistikprogramm SPSSPC+™ (NORUSIS, 1988; SCHUBÖ und UEHLINGER 1986; UEHLINGER et al., 1988)

4 Ergebnisse

Bei der Darstellung und Besprechung der Ergebnisse wurden in den Tabellen folgende Abkürzungen verwendet:

Abkürzung	Einheit	Erklärung
Bes		Durchschnittliche Zahl der Besamungen pro Ejakulat
FER		Durchschnittliche Ferkelzahl pro Ejakulat (Summe Ferkel geteilt durch Besamungen)
FERTD		Durchschnittliche Ferkelzahl pro Wurf und Ejakulat (Summe Ferkel geteilt durch Würfe)
G	$\mu\text{m}/\text{sek}$	Durchschnittsgeschwindigkeit aller Zellen
GV	$\mu\text{m}/\text{sek}$	Durchschnittsgeschwindigkeit der vorwärtsbeweglichen Zellen
G x - y	%	Prozentsatz der Zellen mit einer Geschwindigkeit von x $\mu\text{m}/\text{sek}$ bis einschließlich y $\mu\text{m}/\text{sek}$
K	%	Prozentsatz der Zellen mit Kreisbewegung
L	%	Prozentsatz der Zellen mit linearer Bewegung

NL	%	Prozentsatz der Zellen mit nicht linearer Bewegung
O	%	Prozentsatz der Zellen mit Ortsbewegung
U	%	Prozentsatz der Zellen ohne Bewegung
V	%	Prozentsatz der Zellen mit Vorwärtsbewegung
VELV	$\mu\text{m}/\text{sek}$	Geschwindigkeit in der V-Klassifikation
VELS	$\mu\text{m}/\text{sek}$	Geschwindigkeit in der S-Klassifikation
LHD	0,1 μm	Kopfschlagfrequenz
RAD	μm	Radius der Spermienbahn

4.1 Überprüfung der Meßgenauigkeit

Die Überprüfung der Meßgenauigkeit des verwendeten Bildanalysesystems und der verwendeten Softwareversion IC1 vom 30.10.1987 (59880 Byte) am Modell linear bewegter Punkte (zwischen 222 mm/min und 3333 mm/min) zeigt eine maximale Abweichung der Geschwindigkeitsmessung von 0,5 $\mu\text{m}/\text{sek}$ im Vergleich zu manuell (RIEMKE, 1984) gemessenen Werten (Tab. 3 und Tab. 4). Die Werte der Computeranalyse sind Mittelwerte aus 103 bis 115 Meßwiederholungen bei den 5 Geschwindigkeiten 5,5 $\mu\text{m}/\text{sek}$, 13,75 $\mu\text{m}/\text{sek}$, 27,5 $\mu\text{m}/\text{sek}$, 55 $\mu\text{m}/\text{sek}$ und 82,5 $\mu\text{m}/\text{sek}$. Der Computerwert liegt bei niedrigen Geschwindigkeiten der zu messenden Objekte unter, bei hohen Geschwindigkeiten über der manuell gemessenen Geschwindigkeit.

Bei diesen 5 verschiedenen Geschwindigkeiten wurde der Variationskoeffizient zur Bestimmung der Wiederholgenauigkeit berechnet. Mit zunehmender Geschwindigkeit der Objekte verringert sich der Variationskoeffizient von 5,05% bei 5,5 $\mu\text{m}/\text{sek}$ auf 1,08% bei 82,5 $\mu\text{m}/\text{sek}$ (V-Klassifikation), bei der S-Klassifikation von 3,65% auf 1,12%. Die Werte der Kopfschlagfrequenz (LHD) liegen zwischen 1,509 und 1,779. Die Einheit, in der die Kopfschlagfrequenz gemessen wird, beträgt 0,1 μm . Erwartungsgemäß müßte der Wert bei linearer Bewegung ohne seitliche Abweichung, wie sie hier simuliert wurde, 0,0 μm betragen. Der Variationskoeffizient in der Berechnung der Kopfschlagfrequenz (LHD) schwankt zwischen 28,81% und 52,46%. Der Parameter Radius zeigt eine deutliche Geschwindigkeitsabhängigkeit. Die Werte steigen mit zunehmender Geschwindigkeit, bis sie ab 55 $\mu\text{m}/\text{sek}$ den Wert 255 $\mu\text{m}/\text{sek}$ für linear bewegliche Spermien erreichen (Tab. 3). Während der Variationskoeffizient bei 5,5 $\mu\text{m}/\text{sek}$ 172,57% beträgt, fällt er ab 55 $\mu\text{m}/\text{sek}$ auf 0% ab (Tab. 5). Aus diesen Gründen wurden die Kriterien LHD und Radius nicht zur Bewertung des Bewegungsverhaltens der Spermien in dieser Arbeit verwendet.

Die Einteilung in verschiedene Bewegungsformen wurde nach dem Verhältnis Geschwindigkeit von Anfangspunkt zu Endpunkt der Bahn dividiert durch die Geschwindigkeit über die tatsächlich durchschwommene Strecke vorgenommen (VELS/VELV). Ein Quotient

von 0,90 oder größer steht für lineare Bewegung, von einschließlich 0,80 bis 0,89 für nicht lineare Bewegung und kleiner 0,80 für Kreisläufer.

Tab. 3: Messung von linear bewegten Bildpunkten bei verschiedenen Geschwindigkeiten. Mittelwerte und Standardabweichungen der Computermessung aus n Meßwiederholungen.

Parameter der Computerauswertung	Geschwindigkeit in $\mu\text{m}/\text{sek}$, manuelle Messung				
	5,50	13,75	27,50	55,00	82,50
	n=115	n=114	n=103	n=105	n=104
VELV $\mu\text{m}/\text{sek}$	5,070	13,439	27,447	55,457	83,000
	$\pm 0,256$	$\pm 0,498$	$\pm 0,500$	$\pm 0,519$	$\pm 0,903$
VELS $\mu\text{m}/\text{sek}$	5,035	13,351	27,447	55,457	82,942
	$\pm 0,184$	$\pm 0,479$	$\pm 0,500$	$\pm 0,519$	$\pm 0,933$
LHD 0,1 μm	1,626	1,509	1,767	1,686	1,779
	$\pm 0,853$	$\pm 0,599$	$\pm 0,509$	$\pm 0,543$	$\pm 0,750$
RAD μm	58,704	108,518	185,252	255,000	255,000
	$\pm 101,305$	$\pm 95,601$	$\pm 52,333$	$\pm 0,000$	$\pm 0,000$

Tab. 4: Vergleich zwischen Geschwindigkeitsmessung am Monitor manuell und der Computermessung sowie tatsächlicher Geschwindigkeit bei der Videoaufnahme.

Geschwindigkeit manuelle Messung	Geschwindigkeit Computermessung	Geschwindigkeit bei Aufnahme
5,50 $\mu\text{m}/\text{sek}$	5,1 $\mu\text{m}/\text{sek}$	222 mm/min
13,75 $\mu\text{m}/\text{sek}$	13,4 $\mu\text{m}/\text{sek}$	556 mm/min
27,50 $\mu\text{m}/\text{sek}$	27,4 $\mu\text{m}/\text{sek}$	1111 mm/min
55,00 $\mu\text{m}/\text{sek}$	55,5 $\mu\text{m}/\text{sek}$	2222 mm/min
82,50 $\mu\text{m}/\text{sek}$	83,0 $\mu\text{m}/\text{sek}$	3333 mm/min

Tab. 5: Variationskoeffizienten der Computermeßwerte aus Tabelle 1 für die Parameter VELV, VELS, LHD, RAD bei verschiedenen Geschwindigkeiten.

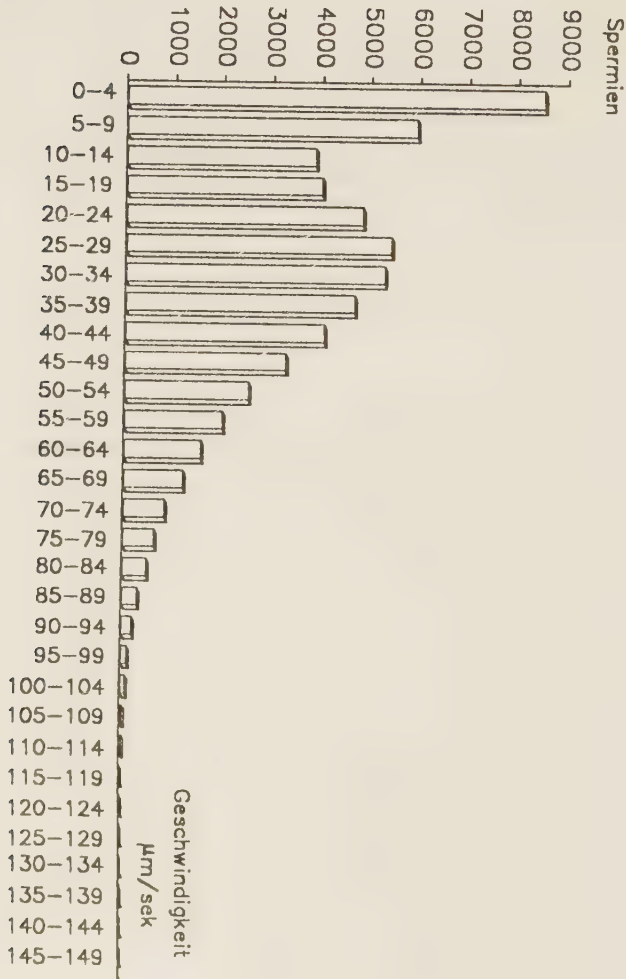
Parameter	Geschwindigkeit in $\mu\text{m}/\text{sek}$, manuelle Messung				
	5,50	13,75	27,50	55,00	82,50
VELV	5,05%	3,71%	1,82%	0,94%	1,08%
VELS	3,65%	3,59%	1,82%	0,94%	1,12%
LHD	52,46%	39,70%	28,81%	32,21%	42,16%
RAD	172,57%	88,10%	28,25%	0,00%	0,00%

4.2 Parameter für die Auswertung von Ebersperma

Das wichtigste Kriterium für die Beurteilung von Sperma ist auch bei der Computerauswertung die Motilität. Anhand von je 15 Gesichtsfeldern von 100 Ejakulaten wurde eine Geschwindigkeitsverteilung für Eberspermien 60 min nach der Verdünnung mit "Merck I" erstellt (Abb. 1). Von den 60585 beobachteten Spermien bewegten sich 14,1% mit 0 - 4 $\mu\text{m}/\text{sek}$, 9,8% der Spermien bewegten sich mit 5 - 9 $\mu\text{m}/\text{sek}$. Entsprechend der Einteilung beim Bullen wären das 23,9% unbewegliche Samenzellen. Zwischen 10 und 29 $\mu\text{m}/\text{sek}$ lagen 30,0% aller Spermien und mit 30 $\mu\text{m}/\text{sek}$ und mehr bewegten sich 46,1%. Die Geschwindigkeitsgrenzen zur Gruppierung in vorwärts-, orts- und unbewegliche Samenzellen wurden daher, im Vergleich zu den bei Bullensperma gebräuchlichen Werten, verändert. Als

unbeweglich gelten Samenzellen mit einer Geschwindigkeit von 0 - 4 $\mu\text{m}/\text{sek}$, als ortsbeweglich 5 - 9 $\mu\text{m}/\text{sek}$ und ab 10 $\mu\text{m}/\text{sek}$ als vorwärtsbeweglich. Nach diesen Grenzwerten ergeben sich 14,1% unbewegliche, 9,8% ortsbewegliche und 76,1% vorwärtsbewegliche Spermien. Von den vorwärtsbeweglichen Samenzellen bewegen sich 17,5% schneller als 50 $\mu\text{m}/\text{sek}$, 9,9% schneller als 60 $\mu\text{m}/\text{sek}$, 5,2% schneller als 70 $\mu\text{m}/\text{sek}$, 2,6% schneller als 80 $\mu\text{m}/\text{sek}$ und nur 1,2% über 90 $\mu\text{m}/\text{sek}$. Einzelne Spermien erreichen Geschwindigkeiten von 148 $\mu\text{m}/\text{sek}$.

Abb. 1: Geschwindigkeitsverteilung von Eberspermien 60 min nach Verdünnung mit "Merck I" (50 Eber je 2 Ejakulate; 60585 Spermien).



4.3 Vergleich Schätzwerte mit Computerwerten

Der Vergleich Computermessung und Schätzung wurde nach Stationen getrennt ausgewertet. Bei Station A konnten Schätzwerte von 464, bei Station B von 1032, und bei Station C von 462 Gesichtsfeldern mit dem Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien aus der Computeranalyse verglichen werden. Der Computer berechnet den Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien pro Gesichtsfeld auf eine Dezimalstelle genau. Die Schätzwerte werden üblicherweise in 5%-Stufen registriert, da kleinere Differenzierungen bei diesem subjektiven Verfahren nicht sinnvoll sind. Die Schätzwerte lagen bei Station A im Mittel über den Computerwerten für den Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien, bei Station B und Station C darunter (Tab. 6). Die Korrelationskoeffizienten zwischen den geschätzten Werten und den Computerwerten waren bei allen Stationen signifikant und betrugen für Station A, $r = 0,83$; für Station B, $r = 0,91$ und für Station C, $r = 0,74$; ($p < 0,01$).

Tab. 6: Mittelwerte und Standardabweichungen der Schätzwerte und der Computerwerte für den Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien bei allen Stationen (Schätzwerte in 5%-Schritten, Computerwerte in 0,1%-Schritten).

Motilität	Station A	Station B	Station C
V % Computer	59,8 ± 22,70	63,6 ± 27,70	67,1 ± 21,75
V % Schätzung	65,3 ± 19,87	51,6 ± 25,83	50,9 ± 31,30

4.4 Einfluß der Lagerungszeiten auf verschiedene Parameter der Spermienmotilität

Für diesen Vergleich konnten bei Station A zwischen 4 und 8 Ejakulate von 17 Ebern (92 Ejakulate), bei Station B zwischen 2 und 9 Ejakulate von 15 Ebern (60 Ejakulate) und bei Station C zwischen 4 und 7 Ejakulate von 13 Ebern (73 Ejakulate) herangezogen werden.

4.4.1 Anteile von vorwärts-, orts- und unbeweglichen Spermien

Der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien nimmt mit der Lagerungszeit ab. In allen 3 Stationen ist der Abfall des Prozentsatzes vorwärtsbeweglicher Spermien zwischen 1 und 6 Stunden, 1 und 24 Stunden sowie zwischen 6 und 24 Stunden Lagerung signifikant. Der Prozentsatz ortsbeweglicher Spermien nimmt mit der Lagerungszeit zu (Tab. 7 - Tab. 9). Diese Zunahme mit der Lagerungsdauer ist bei allen Stationen zwischen 1 und 24 Stunden und zwischen 6 und 24 Stunden signifikant. Der Anteil ortsbeweglicher Spermien unterliegt jedoch nur geringen Schwankungen. Der maximale Anstieg beträgt bei Station B zwischen Stunde 1 und Stunde 24 in der Kontrollverdünnung 5,9%. Der Prozentsatz unbeweglicher Spermien nimmt mit der Lagerungszeit zu (Tab. 7 - Tab. 9). Dieser Anstieg ist in allen Stationen zwischen den 3 Zeiten signifikant. Der

Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien in der Kontrollverdünnung ist bei Station A und C signifikant höher als in der Stationsverdünnung. Station B weist in diesem Parameter keine signifikanten Unterschiede auf. Bei Station A sind die Werte der Kontrolle zu allen 3 Aufnahmezeiten höher als in der Stationsverdünnung (Tab. 7). Der Wert der Kontrollverdünnung liegt bei Station C nach 1 Stunde niedriger, die Werte nach 6 und 24 Stunden höher als in der Stationsverdünnung (Tab. 9). Der Wert der Kontrolle bei Station B ist nur nach 24 Stunden höher. Nach 1 und 6 Stunden liegt er unter dem Wert der Stationsverdünnung (Tab. 8).

Tab. 7: Station A, Mittelwerte und Standardabweichungen der Prozentsätze vorwärts-, orts- und unbeweglicher Spermien, in der Stations- und Kontrollverdünnung. Messung 1, 6 und 24 Stunden nach der Verdünnung mit "Merck I". Lagerung bei +15°C (n = 92).

Motilitäts- Parameter	Stationsverdünnung			Kontrollverdünnung		
	1h	6h	24h	1h	6h	24h
V %	69,5 ±12,11	61,5 ±14,63	41,2 ±19,52	72,4 ±10,31	63,6 ±15,24	46,2 ±19,39
O %	11,2 ± 7,18	11,7 ± 6,52	13,7 ± 4,52	10,1 ± 6,10	11,5 ± 6,00	14,7 ± 5,19
U %	19,4 ± 8,84	26,8 ±11,39	45,1 ±18,67	17,5 ± 6,82	24,9 ±11,97	39,1 ±17,48

Tab. 8: Station B, Mittelwerte und Standardabweichungen der Prozentsätze vorwärts-, orts- und unbeweglicher Spermien, in der Stations- und Kontrollverdünnung. Messung 1, 6 und 24 Stunden nach der Verdünnung mit "Merck I". Lagerung Stationsverdünnung bei Raumtemperatur, Kontrolle bei +15°C (n = 60).

Motilitäts- Parameter	Stationsverdünnung			Kontrollverdünnung		
	1h	6h	24h	1h	6h	24h
V %	79,6 ± 8,70	70,7 ±15,15	25,5 ±21,00	78,7 ± 7,13	70,4 ±13,12	28,4 ±20,09
O %	7,1 ± 6,39	7,9 ± 5,19	12,3 ± 3,02	7,1 ± 5,48	8,9 ± 6,07	13,0 ± 2,97
U %	13,3 ± 5,39	21,4 ±11,31	62,3 ±21,07	14,1 ± 4,54	20,7 ± 9,55	58,6 ±19,98

Tab. 9: Station C, Mittelwerte und Standardabweichungen der Prozentsätze vorwärts-, orts- und unbeweglicher Spermien, in der Stations- und Kontrollverdünnung. Messung 1, 6 und 24 Stunden nach der Verdünnung mit "Merck I". Lagerung bei +15°C (n = 73).

Motilitäts- Parameter	Stationsverdünnung			Kontrollverdünnung		
	1h	6h	24h	1h	6h	24h
V %	76,4 ±10,14	69,6 ±12,75	48,6 ±23,22	74,5 ±12,23	71,7 ±15,25	56,8 ±21,59
O %	10,5 ± 6,38	12,0 ± 6,25	13,4 ± 4,56	11,0 ± 6,54	11,6 ± 6,85	12,4 ± 4,50
U %	13,0 ± 6,09	18,4 ± 9,85	38,1 ±22,86	14,5 ± 8,97	16,7 ±12,04	30,9 ±20,32

4.4.2 Bewegungsform der Spermien

Mit zunehmender Lagerungsdauer zeigt nur der Prozentsatz kreisförmig vorwärtsbeweglicher Spermien eine signifikante Abnahme (Tab. 10 - Tab. 12). Der Prozentsatz linear- und nicht linear vorwärtsbeweglicher Zellen läßt keinen Einfluß der Zeit erkennen. Der Prozentsatz linear vorwärtsbeweglicher Spermien ist bei Station A und Station C in der Kontrollverdünnung signifikant höher als in der Stationsverdünnung (Tab. 10 und Tab. 12). Bei Station B ist der Unterschied nicht signifikant (Tab. 11). Der Prozentsatz nicht linear vorwärtsbeweglicher Spermien unterscheidet sich nur bei Station A signifikant. Der Prozentsatz kreisförmig vorwärtsbeweglicher Spermien weist bei keiner Station einen signifikanten Unterschied zwischen der Stations- und der Kontrollverdünnung auf.

Tab. 10: Station A, Mittelwerte und Standardabweichungen der Prozentsätze linear-, nichtlinear- und kreisförmig Vorwärtsbeweglicher Spermien, der Stations- und Kontrollverdünnung. Messung 1, 6 und 24 Stunden nach der Verdünnung mit "Merck I". Lagerung bei +15°C (n = 92).

Motilitäts- Parameter	Stationsverdünnung			Kontrollverdünnung		
	1h	6h	24h	1h	6h	24h
L %	15,1 ± 4,69	16,3 ± 5,57	13,6 ± 9,46	16,1 ± 4,87	17,4 ± 5,42	17,4 ± 11,54
NL %	13,0 ± 2,99	13,1 ± 4,16	9,5 ± 4,76	13,7 ± 2,84	13,6 ± 3,78	10,2 ± 4,56
K %	41,5 ± 11,78	32,1 ± 9,90	18,2 ± 9,47	42,6 ± 10,68	32,6 ± 10,74	18,6 ± 8,47

Tab. 11: Station B, Mittelwerte und Standardabweichungen der Prozentsätze linear-, nichtlinear- und kreisförmig Vorwärtsbeweglicher Spermien, der Stations- und Kontrollverdünnung. Messung 1, 6 und 24 Stunden nach der Verdünnung mit "Merck I". Lagerung Stationsverdünnung bei Raumtemperatur, Kontrolle bei +15°C (n = 60).

Motilitäts- Parameter	Stationsverdünnung			Kontrollverdünnung		
	1h	6h	24h	1h	6h	24h
L %	16,4 ± 5,29	22,2 ± 7,07	11,4 ± 11,22	17,5 ± 6,26	18,8 ± 5,18	9,9 ± 8,25
NL %	14,9 ± 3,75	16,5 ± 3,82	5,6 ± 5,15	14,8 ± 3,12	15,6 ± 3,66	6,4 ± 4,80
K %	48,3 ± 9,24	32,0 ± 11,14	8,5 ± 6,13	46,4 ± 9,75	36,1 ± 10,02	12,1 ± 8,40

Tab. 12: Station C, Mittelwerte und Standardabweichungen der Prozentsätze linear-, nichtlinear- und kreisförmig Vorwärtsbeweglicher Spermien, der Stations- und Kontrollverdünnung. Messung 1, 6 und 24 Stunden nach der Verdünnung mit "Merck I". Lagerung bei +15°C (n = 73).

Motilitäts- Parameter	Stationsverdünnung			Kontrollverdünnung		
	1h	6h	24h	1h	6h	24h
L %	21,0 ± 6,37	24,4 ± 7,80	22,5 ± 13,62	21,0 ± 7,73	27,1 ± 10,30	27,8 ± 14,16
NL %	16,0 ± 3,02	16,1 ± 3,58	10,9 ± 5,53	15,8 ± 3,60	16,4 ± 3,97	12,5 ± 4,86
K %	39,4 ± 9,66	29,1 ± 8,94	15,1 ± 8,10	37,7 ± 10,43	28,3 ± 8,91	16,5 ± 8,04

Der Einfluß der Lagerungszeit wird deutlicher, wenn man den Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien gleich 100% setzt und die Anteile der verschiedenen Bewegungsformen zu verschiedenen Aufnahmezeiten vergleicht. Bei allen Stationen zeigt sich sowohl in der Kontrollverdünnung wie auch in der Stationsverdünnung eine Zunahme des Anteils linearer Bewegung mit der Lagerungszeit (Tab. 13 - Tab. 15). Der relative Anteil der vorwärtsbeweglichen Spermien mit Kreisbewegung fällt mit zunehmender Lagerungszeit ab. Der relative Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien mit nicht linearer Bewegung steigt 6 Stunden und 24 Stunden nach der Verdünnung im Vergleich zum Wert nach 1 Stunde an (Tab. 15). Der Anstieg ist jedoch gering und beträgt maximal 4,7% (Stationsverdünnung B, zwischen 1 und 6 Stunden) und minimal 0,8% (Kontrollverdünnung C, zwischen 1 und 24 Stunden).

Tab. 13: Station A, Prozentuale Verteilung der vorwärtsbeweglichen Spermien in der Stations- und Kontrollverdünnung auf die einzelnen Bewegungsformen. Messung 1, 6 und 24 Stunden nach der Verdünnung mit "Merck I". Lagerung bei +15°C. Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien gleich 100% gesetzt (n = 92).

Motilitäts- Parameter	Stationsverdünnung			Kontrollverdünnung		
	1h	6h	24h	1h	6h	24h
L %	21,7	26,5	32,9	22,2	27,4	37,7
NL %	18,6	21,3	22,9	19,0	21,3	22,1
K %	59,7	52,2	44,2	58,8	51,3	40,2

Tab. 14: Station B, Prozentuale Verteilung der vorwärtsbeweglichen Spermien in der Stations- und Kontrollverdünnung auf die einzelnen Bewegungsformen. Messung 1, 6 und 24 Stunden nach der Verdünnung mit "Merck I". Lagerung Stationsverdünnung bei Raumtemperatur, Kontrolle bei +15°C. Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien gleich 100% gesetzt (n = 60).

Motilitäts- Parameter	Stationsverdünnung			Kontrollverdünnung		
	1h	6h	24h	1h	6h	24h
L %	20,6	31,4	44,6	22,2	26,7	34,8
NL %	18,7	23,4	22,1	18,8	22,1	22,5
K %	60,7	45,2	33,3	59,0	51,2	42,7

Tab. 15: Station C, Prozentuale Verteilung der vorwärtsbeweglichen Spermien in der Stations- und Kontrollverdünnung auf die einzelnen Bewegungsformen. Messung 1, 6 und 24 Stunden nach der Verdünnung mit "Merck I". Lagerung bei +15°C. Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien gleich 100% gesetzt (n = 73).

Motilitäts- Parameter	Stationsverdünnung			Kontrollverdünnung		
	1h	6h	24h	1h	6h	24h
L %	27,5	35,1	46,3	28,2	37,8	49,0
NL %	20,9	23,1	22,5	21,2	22,8	22,0
K %	51,6	41,8	31,2	50,6	39,4	29,0

4.4.3 Geschwindigkeit der Spermien

Die Durchschnittsgeschwindigkeit der vorwärtsbeweglichen Spermien fällt mit der Lagerungszeit ab (Tab. 16 - Tab. 18). Bei Station A ist dieser Abfall zwischen allen Aufnahmezeiten signifikant. Bei Station B und C ist der Abfall zwischen 1 Stunde und 24 Stunden sowie zwischen 6 Stunden und 24 Stunden Lagerung signifikant. Nicht signifikant ist der Abfall zwischen der Messung nach 1 Stunde und nach 6 Stunden Lagerung. Auch die Durchschnittsgeschwindigkeit aller Samenzellen fällt mit der Lagerungszeit ab. Dieser Abfall ist an allen 3 Stationen zwischen den Aufnahmen nach 1 Stunde, nach 6 Stunden und nach 24 Stunden signifikant. Die Geschwindigkeit in der Kontrollverdünnung liegt über der der Stationsverdünnung. Die Durchschnittsgeschwindigkeit der vorwärtsbeweglichen Zellen ist, wie auch die Durchschnittsgeschwindigkeit aller Zellen, zwischen Stations- und Kontrollverdünnung bei Station A und C signifikant unterschiedlich. Bei Station B ist kein signifikanter Unterschied vorhanden.

Tab. 16: Station A, Mittelwerte und Standardabweichungen der Geschwindigkeiten aller gemessenen Spermien und der vorwärtsbeweglichen Spermien, in der Stations- und Kontrollverdünnung. Messung 1, 6 und 24 Stunden nach der Verdünnung mit "Merck I". Lagerung bei +15°C (n = 92).

Motilitäts- Parameter	Stationsverdünnung			Kontrollverdünnung		
	1h	6h	24h	1h	6h	24h
G $\mu\text{m}/\text{sek}$	26,9 $\pm 6,92$	23,2 $\pm 6,55$	15,1 $\pm 7,79$	28,4 $\pm 6,35$	24,3 $\pm 6,78$	17,1 $\pm 7,90$
GV $\mu\text{m}/\text{sek}$	36,6 $\pm 6,11$	35,0 $\pm 5,45$	30,4 $\pm 7,12$	37,6 $\pm 5,99$	35,7 $\pm 5,39$	31,7 $\pm 6,48$

Tab. 17: Station B, Mittelwerte und Standardabweichungen der Geschwindigkeiten aller gemessenen Spermien und der vorwärtsbeweglichen Spermien, in der Stations- und Kontrollverdünnung. Messung 1, 6 und 24 Stunden nach der Verdünnung mit "Merck I". Lagerung Stationsverdünnung bei Raumtemperatur, Kontrolle bei +15°C (n = 60).

Motilitäts- Parameter	Stationsverdünnung			Kontrollverdünnung		
	1h	6h	24h	1h	6h	24h
G $\mu\text{m}/\text{sek}$	31,7 $\pm 7,35$	27,5 $\pm 8,37$	9,9 $\pm 7,58$	30,4 $\pm 6,50$	27,7 $\pm 7,37$	11,2 $\pm 7,65$
GV $\mu\text{m}/\text{sek}$	38,6 $\pm 7,16$	36,7 $\pm 6,12$	27,7 $\pm 7,14$	37,5 $\pm 7,09$	37,4 $\pm 5,93$	29,4 $\pm 6,90$

Tab. 18: Station C, Mittelwerte und Standardabweichungen der Geschwindigkeiten aller gemessenen Spermien und der vorwärtsbeweglichen Spermien, in der Stations- und Kontrollverdünnung. Messung 1, 6 und 24 Stunden nach der Verdünnung mit "Merck I". Lagerung bei +15°C (n = 73).

Motilitäts- Parameter	Stationsverdünnung			Kontrollverdünnung		
	1h	6h	24h	1h	6h	24h
G $\mu\text{m}/\text{sek}$	28,3 $\pm 6,08$	26,0 $\pm 6,44$	17,8 $\pm 8,96$	28,5 $\pm 6,12$	27,3 $\pm 6,68$	20,9 $\pm 8,62$
GV $\mu\text{m}/\text{sek}$	35,6 $\pm 5,95$	35,4 $\pm 5,97$	31,8 $\pm 6,59$	36,7 $\pm 5,94$	36,2 $\pm 4,74$	33,2 $\pm 5,48$

4.5 Einfluß der Zugabe von "Nachverdünner" auf verschiedene Parameter der Spermienmotilität

Bei Station B wurden 1 - 9 Ejakulate von 15 Ebern, insgesamt 60 Ejakulate, sowohl ohne als auch mit Nachverdünner gemessen. Die Zugabe von Nachverdünner erfolgte jeweils 15 Minuten vor der Aufnahme.

4.5.1 Anteile von vorwärts-, orts- und unbeweglichen Spermien

Die Zugabe von Nachverdünner hat auf die Parameter Vorwärtsbeweglichkeit, Ortsbeweglichkeit und Unbeweglichkeit unterschiedlichen Einfluß je nach vorangegangener Lagerungsdauer (Tab. 19). Nach einer Lagerungszeit von nur einer Stunde hatte

die Mischung der verdünnten Samenproben mit dem Nachverdünner keinen Einfluß auf den Anteil vorwärtsbeweglicher Samenzellen. Bei der Messung nach 6 Stunden ist der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ortsbeweglicher Spermien signifikant höher als ohne Nachverdünner, der Prozentsatz unbeweglicher signifikant niedriger. Nach 24 Stunden ist der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher signifikant höher, der Prozentsatz unbeweglicher signifikant niedriger als ohne Nachverdünner. Der Prozentsatz ortsbeweglicher Spermien zeigt keinen signifikanten Unterschied.

Tab. 19: Station B, Mittelwerte und Standardabweichungen der Prozentsätze vorwärts-, orts- und unbeweglicher Spermien, in der Stationsverdünnung mit und ohne Nachverdünner. Messung 1, 6 und 24 Stunden nach der Verdünnung mit "Merck I". Lagerung bei Raumtemperatur (n = 60).

Motilitäts- Parameter	Stationsverd. ohne			Stationsverd. mit		
	1h	6h	24h	1h	6h	24h
V %	79,6 ± 8,70	70,7 ±15,15	25,5 ±21,00	77,6 ± 8,55	73,6 ±10,15	37,8 ±23,93
O %	7,1 ± 6,39	7,9 ± 5,19	12,3 ± 3,02	11,5 ± 7,81	8,9 ± 5,92	11,9 ± 3,50
U %	13,3 ± 5,39	21,4 ±11,31	62,3 ±21,07	10,9 ± 3,21	17,6 ± 7,12	50,3 ±22,37

4.5.2 Bewegungsform der Spermien

Bei der Messung nach 1 Stunde, nach 6 Stunden und nach 24 Stunden ist der Prozentsatz linear und nicht linear vorwärtsbeweglicher Spermien mit Nachverdünner signifikant höher als ohne Nachverdünner (Tab. 20). Der Prozentsatz kreisförmig beweglicher ist bei der Messung nach 1 und 6 Stunden mit Nachverdünner signifikant niedriger, nach 24 Stunden ohne signifikanten Unterschied ($p < 0,05$).

Tab. 20: Station B, Mittelwerte und Standardabweichungen der Prozentsätze linear-, nichtlinear- und kreisförmig Vorwärtsbeweglicher Spermien, der Stationsverdünnung ohne und mit Nachverdünner. Messung 1, 6 und 24 Stunden nach der Verdünnung mit "Merck I". Lagerung bei Raumtemperatur ($n = 60$).

Motilitäts- Parameter	Stationsverd. ohne			Stationsverd. mit		
	1h	6h	24h	1h	6h	24h
L %	16,4 ± 5,29	22,2 ± 7,07	11,4 ± 11,22	20,1 ± 6,77	27,3 ± 7,92	19,9 ± 15,08
NL %	14,9 ± 3,75	16,5 ± 3,82	5,6 ± 5,15	16,9 ± 3,41	17,9 ± 3,43	8,8 ± 5,91
K %	48,3 ± 9,24	32,0 ± 11,14	8,5 ± 6,13	40,6 ± 9,97	28,4 ± 10,24	9,1 ± 5,72

Vergleicht man die relativen Anteile der Bewegungsformen innerhalb des Prozentsatzes vorwärtsbeweglicher Spermien

(= 100%) so zeigt sich, daß die Zugabe des Nachverdünners die Zahl vorwärtsbeweglicher Samenzellen mit Kreisbewegung senkte (Tab. 21). Der relative Prozentsatz linear beweglicher Spermien steigt mit der Lagerungszeit an. Auch dieser Anstieg wird durch Nachverdünnerzugabe verstärkt. Bei allen 3 Aufnahmezeiten ist der relative Prozentsatz linear vorwärtsbeweglicher Spermien in Proben mit Nachverdünnerzusatz höher. Das gleiche gilt für den relativen Prozentsatz nicht linear vorwärtsbeweglicher Spermien.

Tab. 21: Station B, Prozentuale Verteilung der vorwärtsbeweglichen Spermien in der Stationsverdünnung ohne und mit Nachverdünner. Messung 1, 6 und 24 Stunden nach der Verdünnung mit "Merck I". Lagerung bei Raumtemperatur. Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien gleich 100% gesetzt (n = 60).

Motilitäts- Parameter	Stationsverd. ohne			Stationsverd. mit		
	1h	6h	24h	1h	6h	24h
L %	20,6	31,4	44,6	25,9	37,0	52,6
NL %	18,7	23,4	22,1	21,8	24,4	23,3
K %	60,7	45,2	33,3	52,3	38,6	24,1

4.5.3 Geschwindigkeit der Spermien

Die Durchschnittsgeschwindigkeit der vorwärtsbeweglichen Spermien und die aller Spermien ist mit Nachverdünner bei der

Messung nach 1 und 6 Stunden signifikant niedriger als ohne Nachverdünner (Tab. 22). Bei der Messung nach 24 Stunden liegt die Durchschnittsgeschwindigkeit aller Zellen mit Nachverdünner signifikant höher. Die Geschwindigkeit der vorwärtsbeweglichen Spermien unterscheidet sich nicht signifikant. Die Geschwindigkeit fällt mit der Lagerungszeit ab. Dieser Abfall ist bei beiden Verdünnungen zu sehen.

Tab. 22: Station B, Mittelwerte und Standardabweichungen der Geschwindigkeiten aller gemessenen Spermien und der vorwärtsbeweglichen Spermien, in der Stationsverdünnung ohne und mit Nachverdünner. Messung 1, 6 und 24 Stunden nach der Verdünnung mit "Merck I". Lagerung bei Raumtemperatur (n = 60).

Motilitäts- Parameter	Stationsverd. ohne			Stationsverd. mit		
	1h	6h	24h	1h	6h	24h
G $\mu\text{m}/\text{sek}$	31,7 $\pm 7,35$	27,5 $\pm 8,37$	9,9 $\pm 7,58$	27,5 $\pm 4,70$	26,0 $\pm 5,33$	12,8 $\pm 7,68$
GV $\mu\text{m}/\text{sek}$	38,6 $\pm 7,16$	36,7 $\pm 6,12$	27,7 $\pm 7,14$	34,0 $\pm 4,38$	33,8 $\pm 4,06$	27,6 $\pm 5,36$

4.6 Beziehung zwischen Motilitätsparametern in den Ejakulaten und der durchschnittlichen Ferkelzahl

Insgesamt konnte die Beziehung zwischen den mittels CVM-Verfahren ermittelten Parametern zu den durchschnittlichen Ferkelzahlen pro Ejakulat an 731 Besamungen überprüft werden.

Die Berechnungen stützen sich auf 2 - 6 Ejakulate von 26 Ebern (89 Ejakulate), von denen Besamungsergebnisse vorlagen. Im Mittel wurden pro Ejakulat ca. 8 Besamungen mit einer Schwankungsbreite von 5 - 18 erfaßt (Tab. 23). Die durchschnittliche Ferkelzahl pro Wurf betrug $9,8 \pm 1,4$ (Mittelwerte der erfaßten Würfe pro Ejakulat; minimal 6,4 bis maximal 13,3 Ferkel). Als weiterer Fruchtbarkeitsparameter (FER) wurde die Gesamtzahl der geborenen Ferkel durch die Zahl der Besamungen dividiert und so durchschnittliche Ferkelzahlen pro Besamung errechnet. In diesen Parameter ging also auch die mit den Samenportionen eines Ejakulates erzielte Trächtigkeitsrate mit ein. Pro Besamung wurden durchschnittlich $7,5 \pm 2,0$ Ferkel errechnet, mit einer Schwankungsbreite von 3,4 bis 12,0 Ferkel (Mittelwerte der erfaßten Besamungen pro Ejakulat).

Die Videoaufnahmen der Samenproben, der danach zur Künstlichen Besamung eingesetzten Ejakulate, wurden 1 Stunde nach der Verdünnung angefertigt. Bei Station B wurden die Proben 15 Minuten vor der Aufnahme mit Nachverdünner vermischt. Der durchschnittliche Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien lag bei $69,9\% \pm 12,60$. Der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Samenzellen schwankte von Ejakulat zu Ejakulat von 31,1% bis 90,9% (Tab. 24). Der Prozentsatz ortsbeweglicher betrug im Mittel $12,1\% \pm 1,79$ (unbewegliche Samenzellen: $18,0\% \pm 9,10$). Das Verhältnis linear bewegliche Spermien : nicht linear bewegliche Spermien : kreisförmig bewegliche Spermien war 0,24

: 0,19 : 0,57. Die Durchschnittsgeschwindigkeit lag für die vorwärtsbeweglichen Spermien bei $36,2 \mu\text{m}/\text{sek} \pm 5,92$ und für alle Spermien bei $26,8 \mu\text{m}/\text{sek} \pm 6,86$. Bei der Berechnung der Korrelationskoeffizienten zwischen den Motilitätsparametern Prozent vorwärtsbewegliche, ortsbewegliche, unbewegliche Spermien sowie der Bewegungsformen linear, nichtlinear, kreisförmig und der durchschnittlichen Ferkelzahl pro Wurf, ergaben sich nur sehr niedrige Werte, die alle nicht signifikant waren. Auch die durchschnittliche Geschwindigkeit der Spermien hatte keinen Bezug zur Ferkelzahl pro Wurf. Die Korrelationskoeffizienten erreichten maximal $r = 0,14$ für die Beziehung zwischen dem Prozentsatz Kreisläufer in einem Ejakulat und der Wurfgröße aufgenommen nach 1 Stunde. Die Untersuchung verschiedener Geschwindigkeitsklassen (Tab. 25) erbrachte signifikante Beziehungen für den Prozentsatz Spermien, die sich mit einer Geschwindigkeit von $20 - 24 \mu\text{m}/\text{sek}$ bewegten ($r = 0,22$; $p < 0,05$), zwischen $25 - 29 \mu\text{m}/\text{sek}$ mit $r = 0,18$ ($p < 0,05$) und zwischen $40 - 44 \mu\text{m}/\text{sek}$ mit $r = -0,02$ ($p < 0,05$).

Bei der Überprüfung, ob eine Beziehung zwischen Motilitätsparametern und der durchschnittlichen Ferkelzahl pro Besamung aus den Portionen eines Ejakulates besteht, fanden sich folgende Beziehungen (Tab. 24). Während der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien positiv ($r = 0,30$; $p < 0,01$) mit der Wurfgröße korreliert war, ergaben sich für den Prozentsatz

ortsbeweglicher bzw. unbeweglicher Spermien negative Korrelationen von $r = -0,25$ ($p < 0,01$) bzw. $r = -0,21$ ($p < 0,05$).

Bei der Bewegungsform war eine signifikante Beziehung mit $r = 0,32$ ($p < 0,01$) nur für den Anteil der sog. Kreisläufer festzustellen. Linear und nicht linear vorwärtsbewegliche Spermien waren nicht signifikant mit der durchschnittlichen Ferkelzahl pro Besamung korreliert. Weder die Geschwindigkeit der vorwärtsbeweglichen Samenzellen noch die Geschwindigkeit aller Samenzellen wies eine signifikante Beziehung zur durchschnittlichen Wurfgröße auf. In den einzelnen Geschwindigkeitsklassen wiesen, neben den Prozentsätzen der Spermien, die sich mit $0 - 4 \mu\text{m}/\text{sek}$ und $5 - 9 \mu\text{m}/\text{sek}$ bewegten, und mit dem Prozentsatz unbeweglicher und ortsbeweglicher Spermien übereinstimmen, die drei Geschwindigkeitsklassen $25 - 29 \mu\text{m}/\text{sek}$, $30 - 34 \mu\text{m}/\text{sek}$ und $35 - 39 \mu\text{m}/\text{sek}$ signifikant positive Korrelationen von $r = 0,30$ ($p < 0,01$), $r = 0,18$ ($p < 0,05$) und $r = 0,20$ ($p < 0,05$) auf. Signifikant war auch die Korrelation zur Geschwindigkeitsklasse von $40 - 44 \mu\text{m}/\text{sek}$ mit $r = 0,2$ ($p < 0,05$).

Tab. 23: Mittelwerte, Standardabweichungen und minimal - maximal Werte der Anzahl Besamungen, der durchschnittlichen Ferkelzahlen pro Wurf (FERTD) und der durchschnittlichen Ferkelzahlen pro Besamung (FER) je Ejakulat (89 Ejakulate; insgesamt 731 Besamungen).

Parameter	$\bar{x} \pm s$	min. - max.
Bes	8,2 $\pm$ 2,8	5,0 - 18,0
FER	7,5 $\pm$ 2,0	3,4 - 12,0
FERTD	9,8 $\pm$ 1,4	6,4 - 13,3

Tab. 24: Meßwerte der CVM nach einer Stunde Lagerung und Korrelationskoeffizienten zu durchschnittlichen Ferkelzahlen pro Wurf (FERTD) und pro Besamung (FER) je Ejakulat (89 Ejakulate; insgesamt 731 Besamungen).

Parameter	Meßwerte		Korr.-Koeffizient	
	$\bar{x} \pm s$	min. max.	FERTD	FER
V %	69,9 $\pm$ 12,6	31,1 - 90,9	0,11	0,30**
O %	12,1 $\pm$ 7,8	1,9 - 32,1	-0,11	-0,25**
U %	18,0 $\pm$ 9,1	5,8 - 52,3	-0,06	-0,21*
L %	16,5 $\pm$ 5,7	8,2 - 35,9	0,002	0,08
NL %	13,6 $\pm$ 3,4	7,0 - 22,2	-0,01	0,14
K %	33,3 $\pm$ 10,5	8,3 - 51,2	0,14	0,32**
G $\mu\text{m}/\text{sek}$	26,8 $\pm$ 6,9	11,7 - 47,8	0,03	0,21
GV $\mu\text{m}/\text{sek}$	36,2 $\pm$ 5,9	19,1 - 52,3	-0,03	0,09

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Tab. 25: Prozentualer Anteil der Zellen in verschiedenen Geschwindigkeitsklassen und Korrelationskoeffizienten zu durchschnittlichen Ferkelzahlen Aufnahme nach einer Stunde (89 Ejakulate; insgesamt 731 Besamungen).

Parameter	Meßwerte			Korr.-Koeffizient	
	$\bar{x} \pm s$	min.	max.	FERTD	FER
G 0 - 4	18,0 $\pm$ 9,1	5,8	52,3	-0,06	-0,21*
G 5 - 9	12,1 $\pm$ 7,8	1,9	32,1	-0,11	-0,25**
G 10 - 14	7,5 $\pm$ 3,7	0,7	17,3	0,07	-0,10
G 15 - 19	7,2 $\pm$ 3,5	0,9	19,3	0,17	-0,01
G 20 - 24	7,7 $\pm$ 3,3	1,4	16,7	0,22*	0,17
G 25 - 29	7,7 $\pm$ 3,0	1,9	17,0	0,18*	0,30**
G 30 - 34	7,2 $\pm$ 3,1	1,5	15,2	0,03	0,18*
G 35 - 39	6,4 $\pm$ 2,9	1,0	15,4	-0,10	0,20*
G 40 - 44	5,6 $\pm$ 2,7	0,6	17,9	-0,20*	0,10
G 45 - 49	4,4 $\pm$ 2,3	0,0	11,7	-0,08	0,15
G 50 - 54	3,6 $\pm$ 1,6	0,0	9,8	-0,04	0,13
G 55 - 59	2,9 $\pm$ 1,5	0,0	7,4	-0,004	0,20*
G 60 - 64	2,4 $\pm$ 1,3	0,0	6,5	0,05	0,12
G 65 - 69	2,0 $\pm$ 1,3	0,0	5,9	-0,01	0,04
G 70 - 74	1,5 $\pm$ 1,0	0,0	5,0	0,04	0,10
G 75 - 79	1,1 $\pm$ 0,8	0,0	3,7	0,10	0,02
G 80 - 84	0,9 $\pm$ 0,7	0,0	2,6	0,12	0,12
G 85 - 89	0,6 $\pm$ 0,6	0,0	2,7	0,06	0,10
G 90 - 94	0,4 $\pm$ 0,4	0,0	1,7	0,12	0,11
G 95 - 99	0,3 $\pm$ 0,4	0,0	2,0	0,03	-0,01
G > 99	0,4 $\pm$ 0,6	0,0	3,0	-0,05	-0,02

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

5 Diskussion

Im Routinebetrieb einer Besamungsstation werden, von Sonderfällen abgesehen, nur einige wenige Parameter bei der Samenuntersuchung erfaßt. Um eine Mindestanzahl von motilen Spermien in jeder Besamungsdosis zu gewährleisten, muß das Volumen des Ejakulates, die Samenkonzentration und der Anteil motiler (vorwärtsbeweglicher) Samenzellen bestimmt werden. Beim Schwein sollten mindestens 2 Milliarden lebende, d.h. motile Spermien, in einer Samenportion enthalten sein, um ein zufriedenstellendes Besamungsergebnis sicherzustellen (MEUER et al., 1986). Bei einem Volumen von 80 - 90 ml für eine Samenportion muß eine Endkonzentration von ca. 30000 motiler Spermien/ μ l eingestellt werden, um die Mindestdosis motiler Spermien zu gewährleisten. Das Ejakulatvolumen sowie die Spermienkonzentration im Nativsamen können einfach und sicher bestimmt werden. Die Probleme bei der korrekten Einstellung der Zahl lebender Spermien pro Besamungsdosis resultieren fast ausschließlich aus der bekannten Unsicherheit bei der subjektiven Beurteilung der Spermienmotilität. Beim Schwein wird dies noch verstärkt durch bestimmte Eigenarten in der Bewegungsform der Spermien. Im Gegensatz zum Rind sind beim Schwein kreisförmige Bewegungsmuster als physiologisch anzusehen (MÜLLER und BRANDL, 1975; WEBER et al., 1980; SCHRÖPPEL, 1988). Diese Besonderheit erschwert eine zuverlässige Angabe

des Anteils vorwärtsbeweglicher Spermien durch eine subjektive Beurteilung (Schätzung).

Das in den letzten Jahren entwickelte Computer-Videomikrographie-Verfahren (CVM) erlaubt eine schnelle und sichere Bestimmung der Bewegungsform der Spermien. Nachdem für das Rind ausreichende Erfahrungen vorliegen (LEIDL et al., 1987), weisen erste Erfahrungen darauf hin, daß diese Methode grundsätzlich auch beim Schwein einzusetzen ist (AUMÖLLER et al., 1987; SCHRÖPPEL, 1988). Das Prinzip zur Bewertung der Spermienmotilität wird durch die Besonderheiten des Bewegungsablaufes bei dieser Spezies nicht beeinträchtigt. Der im Vergleich zum Bullen etwas größere Spermienkopf kommt der Auswertung des Rasters im Videobild sogar entgegen. Die computergesteuerte Erfassung der Bewegungsform sowie der Geschwindigkeit der Spermien führt aber gleichzeitig dazu, daß eine klare Einteilung verschiedener Bewegungsformen möglich und erforderlich ist. Die Geschwindigkeit der Spermien reichte in diesen Untersuchungen von 0 bis 148 $\mu\text{m}/\text{sek}$. Der Begriff "vorwärtsbewegliche Spermien" wird definiert, indem eine Mindestgeschwindigkeit angesetzt wird, unterhalb derer nur mehr von "Ortsbewegung" gesprochen werden sollte. Diese Unterscheidung hat sich bisher in der Spermabeurteilung bewährt. Sie ist unabhängig vom Einsatz einer anderen Technik zur Motilitätsbestimmung. Der in diesen Untersuchungen eingesetzte Grenzwert

von 10 $\mu\text{m}/\text{sek}$ für die Differenzierung zwischen vorwärts- und ortsbeweglichen Spermien wurde aus zwei Gründen gewählt. Einmal sollte dadurch der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien in etwa den Werten bei der Schätzung entsprechen. Die Vorstellungen über die Motilität der Spermien ist durch die bisher übliche subjektive Beurteilung geprägt. Nachdem diese auch noch in den nächsten Jahren für Routineuntersuchungen eingesetzt werden wird, wird der Vergleich zum CVM-Verfahren erleichtert, wenn das absolute Niveau der Werte ungefähr beibehalten wird. Zum anderen sprechen aber auch biologische Gründe für diesen Grenzwert; wie nämlich aus der Geschwindigkeitsverteilung hervorgeht (Abb. 1), beginnt bei 10 $\mu\text{m}/\text{sek}$ eine annähernde Normalverteilung der Geschwindigkeit der Spermien. Die durch Schätzung ermittelten Werte für den Anteil vorwärtsbeweglicher Samenzellen waren den mittels CVM gemessenen Anteilen im Durchschnitt ähnlich (Tab. 6). Dies zeigt, daß durch eine Mindestgeschwindigkeit von 10 $\mu\text{m}/\text{sek}$ als Kriterium für vorwärtsbewegliche Samenzellen das absolute Niveau der bisher durch Schätzung bestimmten Werte beibehalten wird. Im Einzelfall können sich jedoch beträchtliche Abweichungen zwischen den beiden Methoden zur Motilitätsbestimmung ergeben. Die deutlichen Differenzen zwischen den Schätzwerten an verschiedenen Stationen belegen, daß die sog. "subjektive" Beurteilung tatsächlich zu individuell verschiedenen Bewertungen führt. Für den Betriebsablauf in einer

Besamungsstation ist dies nahezu unerheblich, da entweder nur ein Untersucher die Beurteilung durchführt oder eine Abgleichung zwischen verschiedenen Untersuchern leicht möglich ist. Vorgänge, die den Bereich einer Besamungsstation überschreiten, z.B. bei An- oder Verkauf von Samen, werden davon jedoch betroffen. Gerade in solchen Fällen, ebenso auch in Gewährungsfrazen und anderen Fragestellungen in der andrologischen Diagnostik bietet sich das CVM-Verfahren als "objektive" Methode an, bei der ein Einfluß des jeweiligen Untersuchers vernachlässigbar klein ist.

Die Zuverlässigkeit des eingesetzten Meßsystems wurde am Modell linear bewegter Punkte, d.h. mit einer idealisierten Bewegungsform, überprüft. Als Parameter diente die relative Standardabweichung aus den Werten wiederholter Messungen (RASCH, 1987). Bei physikalischen Meßsystemen wird ein Fehler kleiner als 5% angestrebt. Die Beurteilung der Spermienbewegung durch das Verfahren der CVM weist eine zufriedenstellende Genauigkeit für die wichtigsten Parameter auf. Die Geschwindigkeit der Tuschepunkte wurde in einem Bereich von 5,5 bis 82,5 $\mu\text{m}/\text{sek}$ überprüft (Tab. 5). Der Meßfehler betrug bei einer Geschwindigkeit von 5,5 $\mu\text{m}/\text{sek}$ 5,05% und sank bis auf 1,08% bei der höchsten Geschwindigkeit. Dies galt, mit minimalen Abweichungen, sowohl für die Beurteilung der Geschwindigkeit anhand der einzelnen Bahnvektoren (V-Klassifi-

kation) als auch für die Berechnung aus den Positionen der Punkte zu Beginn und am Ende der Meßperiode (S-Klassifikation). Mit Hilfe des CVM-Verfahrens kann auch der Radius von sich kreisförmig bewegenden Partikeln bestimmt werden. Angesichts der häufigen Kreisbewegung von Schweinespermien erschien der Radius als ein interessanter Parameter zur Differenzierung dieser Bewegungsklasse. Wie sich jedoch bei der Überprüfung der Meßgenauigkeit herausstellte, war eine zutreffende Aussage über den Bahnradius erst bei relativ hohen Geschwindigkeiten ($55 \mu\text{m}/\text{sek}$) möglich. Aus diesem Grund wurde bei den Untersuchungen der Eber im Besamungseinsatz auf die Auswertung dieses Parameters verzichtet. Ausgewertet wurden die Anteile vorwärts-, orts- und unbeweglicher Spermien, unterschiedliche Bewegungsformen vorwärtsbeweglicher Spermien sowie die Bewegungsgeschwindigkeit der Spermien.

Die Besamung beim Schwein wird bisher fast ausschließlich mit frisch verdünntem Samen durchgeführt. Ein Großteil der hergestellten Samenportionen dürfte am Tag der Samenentnahme zum Einsatz kommen, spätestens jedoch am Tag danach. Die in diesen Untersuchungen gewählten Beobachtungszeiten von 1 Stunde, 6 und 24 Stunden nach der Samenverarbeitung geben somit Hinweise auf die Veränderungen der Spermienmotilität, wie sie auch in der Praxis der KB beim Schwein von Bedeutung sein dürften. Die Auswertung der o.g. Motilitätsparameter ergab, daß bis zu

einer Lagerungsdauer von 6 Stunden praktisch keine Veränderungen der Spermienmotilität eintreten. Daraus kann gefolgert werden, daß die am Tag der Samenverarbeitung zur Insemination eingesetzten Samenportionen zu diesem Zeitpunkt ähnliche Sameneigenschaften aufweisen, wie sie an der Station während der Konfektionierung ermittelt werden.

Nach einer 24stündigen Lagerungsdauer der verdünnten Samenproben kam es zu deutlichen Veränderungen bei den beurteilten Samenparametern. Am deutlichsten zeigte sich dies beim Anteil vorwärtsbeweglicher Samenzellen, der von 69,5% auf 41,2% (Station A), 79,6% auf 25,5% (Station B) bzw. 76,4% auf 48,6% (Station C) abfiel. Daraus resultiert eine teilweise gravierende Verminderung der absoluten Zahl motiler Spermien pro Besamungsdosis. Bei einer Samenportion mit 100 ml Volumen und einer Samenkonzentration von 30000 motiler Spermien/ μ l wären bei diesen Werten zu Beginn zwischen 2,1 und 2,4 Milliarden vorwärtsbeweglicher Spermien enthalten, nach 24 Stunden aber nur noch zwischen 0,8 und 1,4 Milliarden. Die Aufschlüsselung der vorwärtsbeweglichen Samenzellen in 3 verschiedene Bewegungsformen (linear, nicht linear und kreisförmig) zeigte, daß dieser Motilitätsabfall vorwiegend auf einem Rückgang des Anteils kreisförmiger Spermien beruhte. Dies weist erneut auf die besondere Bedeutung dieser Form der Spermienbewegung beim Eber hin. Die Geschwindigkeit der vor-

wärtsbeweglichen Spermien änderte sich dagegen im Verlauf der 24stündigen Aufbewahrung nur unwesentlich.

Die Samenportionen werden zum Teil bei Raumtemperatur, an einigen Stationen aber auch bei einer Temperatur von +15 Grad Celsius gelagert. Die hier beobachteten Veränderungen der Spermienmotilität waren weitgehend unabhängig von der Lagerungstemperatur. Dies ist den Untersuchungen an einer der 3 Stationen zu entnehmen, wo die konfektionierten Samenproben bei Raumtemperatur gelagert werden. Die in diesen Samenproben beurteilten Samenparameter unterscheiden sich nicht signifikant von denen in der separat hergestellten und bei +15 Grad Celsius gelagerten Kontrollverdünnung. Die Lagerung bei Raumtemperatur würde gegenüber der Temperierung auf +15 Grad Celsius Vorteile bieten, sofern das Befruchtungsvermögen durch diese Maßnahme nicht beeinflußt wird.

Die Beurteilung des Befruchtungsvermögens einzelner Ejakulate eines Ebers ist nur eingeschränkt möglich, da relativ wenige Schweine mit Samenportionen aus einem Ejakulat besamt werden können. In den eigenen Untersuchungen waren es zwischen 5 und 18 Besamungen pro Ejakulat, in denen sowohl die Ergebnisse der Besamung als auch der Motilitätsbeurteilung ausgewertet werden konnten. Hinzu kommt, daß beim Schwein neben der Konzeption auch die Zahl der Früchte eines Muttertieres einen wichtigen

Fruchtbarkeitsparameter darstellt. Die Zahl der Ferkel pro Wurf ist unabhängig von der Trächtigkeitsrate die mit den Samenportionen aus einem Ejakulat erzielt wird. Die durchschnittliche Ferkelzahl pro Besamung reflektiert dagegen beide Fruchtbarkeitsparameter, Trächtigkeitsrate und Ferkelzahl pro Wurf. Ein Vergleich der Motilitätsparameter mit der durchschnittlichen Ferkelzahl pro Wurf ergab sehr niedrige Korrelationskoeffizienten von $-0,11$ bis $+0,14$. Daraus kann gefolgert werden, daß die Ferkelzahl in erster Linie von anderen Faktoren beeinflußt wird; zu nennen wären der Zeitpunkt der Besamung in Relation zur Ovulation, das Alter des Muttertieres, Rasse und Fütterung (BREM und HUBER, 1986). Dagegen ergeben sich teilweise hoch signifikante Beziehungen von Motilitätsparametern zur Gesamt-Ferkelzahl aller Würfe aus dem betreffenden Ejakulat. Dies waren vor allem der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien sowie der Anteil von Spermien mit kreisförmiger Bewegung. Dieses gleichförmige Verhalten bestätigt erneut, daß die Kreisbewegung der Samenzellen beim Eber als physiologische Bewegungsform angesehen werden muß (WEBER et al., 1980). Dagegen waren keine Beziehungen zwischen der Fruchtbarkeit und der Geschwindigkeit vorwärtsbeweglicher Spermien festzustellen. Auch bei der Beurteilung der Samenportionen am Ende der 24stündigen Lagerung war aufgefallen, daß der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien stark abfiel, die Durchschnittsgeschwindigkeit dieser Samenzellen aber kaum

beeinflusst war. Aus diesen Untersuchungen darf nicht der Schluß gezogen werden, daß die Beurteilung des Anteils vorwärtsbeweglicher Spermien eine Vorhersage des Befruchtungsvermögens einzelner Ejakulate erlauben würde; die o.g. Korrelationen basieren auf Ergebnissen aus 89 Ejakulaten mit insgesamt 731 Besamungen. Die Beurteilung der Spermienmotilität mit Hilfe der CVM kann aber objektive Kriterien für die Selektion ungeeigneter Ejakulate geben und so indirekt die Fruchtbarkeit in der KB erhöhen.

6 Zusammenfassung

Das CVM-Verfahren ist inzwischen beim Rind so weit entwickelt, daß es für Fragestellungen in der andrologischen Diagnostik und in der KB eingesetzt werden kann. In der vorliegenden Untersuchung sollte anhand von Samenproben aus der Künstlichen Besamung beim Schwein überprüft werden, inwiefern diese Methode auch beim Eber zutreffende Aussagen über die Spermienmotilität liefert.

Es wurden an 3 Besamungsstationen für Schweine von insgesamt 225 Samenproben von 45 Ebern nach der Konfektionierung, sowie 6 und 24 Stunden nach Herstellung der Samenportionen Videoaufnahmen angefertigt, die dann später mit Hilfe der CVM ausgewertet wurden. Folgende Motilitätsparameter wurden ausgewertet: der Anteil vorwärtsbeweglicher (Geschwindigkeit $> 9 \mu\text{m}/\text{sek}$), ortsbeweglicher ($5 - 9 \mu\text{m}/\text{sek}$) und unbeweglicher Samenzellen ($< 5 \mu\text{m}/\text{sek}$). Innerhalb des Anteils vorwärtsbeweglicher Spermien wurde zwischen Spermien mit linearer, nicht linearer und kreisförmiger Bewegungsform differenziert. Außerdem wurde die Durchschnittsgeschwindigkeit der vorwärtsbeweglichen Spermien sowie die aller Spermien ermittelt.

Die Untersuchungen der frisch verdünnten Samenproben zeigten, daß der Grenzwert von $10 \mu\text{m}/\text{sek}$ für vorwärtsbewegliche

Spermien der subjektiven Beurteilung vergleichbare Werte ergibt. Beim Schwein bewegt sich der überwiegende Teil der vorwärtsbeweglichen Spermien kreisförmig (51,5% bis 60,7% aller Spermien $> 9 \mu\text{m}/\text{sek}$). Die Durchschnittsgeschwindigkeit der vorwärtsbeweglichen Samenzellen in frisch verdünnten Samenportionen an den 3 Stationen betrug im Durchschnitt $35,6 \mu\text{m}/\text{sek}$, $36,6 \mu\text{m}/\text{sek}$ bzw. $38,6 \mu\text{m}/\text{sek}$.

Eine Lagerung der für die KB konfektionierten Samenportionen bis zu 6 Stunden hatte keinen deutlichen Einfluß auf die beurteilten Motilitätsparameter. Nach 24stündiger Aufbewahrung der Samenproben war ein deutlicher Abfall des Anteils vorwärtsbeweglicher Spermien festzustellen. Die Differenzierung in verschiedene Bewegungsformen ergab, daß dieser Abfall in erster Linie die Spermien mit kreisförmiger Bewegung betraf. Rechnerisch ergab sich dadurch ein Absinken der Zahl motiler Samenzellen pro Besamungsdosis auf Werte von 0,8 - 1,4 Milliarden. Die Geschwindigkeit der vorwärtsbeweglichen Spermien wurde durch die Lagerung kaum beeinflusst. Zwischen einer Lagerungstemperatur von $+15^\circ\text{C}$ bzw. Raumtemperatur ergaben sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Motilitätsparameter.

Von 89 untersuchten Ejakulaten wurden insgesamt 731 Samenportionen in der KB eingesetzt und die Wurfgrößen der Sauen

ermittelt. Die Zahl von Besamungen pro Ejakulat schwankte zwischen 5 und 18. Die Wurfgröße der trächtigen Tiere war nicht mit den ermittelten Motilitätsparametern korreliert. Dagegen wurden signifikante Korrelationen zwischen der durchschnittlichen Ferkelzahl pro Besamung aus einem Ejakulat und dem Gesamtanteil vorwärtsbeweglicher Spermien bzw. dem Anteil kreisförmig beweglicher Spermien ermittelt.

Das Computer-Videomikrographie-Verfahren liefert auch beim Eber detaillierte Aussagen über die Bewegungsform und die Geschwindigkeit der Spermien. Diese Methode ist geeignet, Verfahren in der KB im Hinblick auf ihre Auswirkung auf die Vitalität der Spermien überprüfen zu können.

7 Summary

Computer assisted measurement of sperm motility in boar semen processed for artificial insemination.

Computer videomicrographic analysis of sperm motility (CVM) is now available for diagnostic purposes in andrology and artificial insemination as well. The purpose of this paper was to determine whether CVM is equally reliable in measuring the sperm motility of extended boar semen.

Semen samples ($n = 225$) from 45 boars stationed at 3 different A.I. stations were video-taped 1 hour, 6 hours, and 24 hours after dilution. The video-tapes were evaluated by computer. The following parameters of motility were measured: the percentage of forward moving cells (velocity $> 9 \mu\text{m/sec}$), local moving cells ($5 - 9 \mu\text{m/sec}$) and immobile cells ($< 5 \mu\text{m/sec}$). The percentage of forward moving cells was divided into linear moving cells, non linear moving cells and circular moving cells. The mean velocity of the forward moving cells and the mean velocity of all cells were also determined.

The analysis of fresh diluted semen samples showed that the percentage of sperm moving with more than $9 \mu\text{m/sec}$ resulted in similar values as the estimates for "motile sperm". The majority of forward moving boar spermatozoa show circular movement (51.5% to 60.7% of all spermatozoa with a velocity of $> 9 \mu\text{m/sec}$). The mean velocity of forward moving cells in

fresh diluted semen at the 3 stations are 35.6 $\mu\text{m}/\text{sec}$ 36.6 $\mu\text{m}/\text{sec}$ and 38.6 $\mu\text{m}/\text{sec}$.

Storage of diluted semen for up to 6 hours has no strong influence on motility. After 24-hour storage there was significant reduction in the percentage of forward moving cells. As to the differentiation of movement types, the greatest loss occurred in the number of circular moving cells. The calculated number of motile sperm in a single insemination dose decreased from 2 billions to 0.8 - 1.4 billions. The influence of storage on the velocity of forward moving cells was negligible. There was also no significant influence in motility between storage temperature of +15 and +20 degree centigrade.

From 89 analyzed ejaculates, 731 portions were used for inseminating sows. The litter size was recorded. Results of 5 to 18 inseminations were available per ejaculate. No correlations existed between the litter size of pregnant sows and sperm motility. On the other hand significant positive correlations were found between the average litter size of all inseminations from one ejaculate and the percentage forward moving cells as well as the percentage circular moving cells ($r = 0.30$, $r = 0.32$).

CVM gives exact information on the type of movement and the velocity. The method is suitable for examining semen conservation procedures and their impact on sperm vitality.

8 Literaturverzeichnis

AMANN, R.P. and HAMMERSTEDT (1980):

Validation of a System for Computerized Measurements of Spermatozoal Velocity and Percentage of Motile Sperm.
Biol. Reprod. 23, 647-656

ATHERTON, R.W. (1975):

An objective method for evaluating Angus and Hereford sperm motility.

Int. J. Fertil. 20, 109-112

AUMÖLLER, R., H. WILLEKE und G. BERNARDI (1987):

Computergesteuerte Messung von Ebersamen mit dem Cell-Soft-System unter besonderer Berücksichtigung der Verwendeten Verdünnern und der erzielten Befruchtungsergebnisse.

35. Internationale Fachtagung für Fortpflanzung und Besamung, Wels, Österreich

BREM, G. und M. HUBER (1986):

Praxis der Ferkelproduktion.

Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart

GÖTZE, R. (1949):

Besamung und Unfruchtbarkeit der Haussäugetiere.

Hannover, Schaper Verlag

GSCHWEND, H.-J. (1986):

Untersuchungen über die Motilität von Bullenspermien, insbesondere über den Einfluß ihrer Geschwindigkeit auf das Befruchtungsvermögen.

Vet. med. Diss., München

HAEGER, O. und N. MÄCKLE (1971):

Ein Zweiphasen-Verdünnern in der Praxis der Schweinebesamung.
Dtsch. tierärztl. Wschr. 78, 389-412

HEYDORN, K.-P. und S. PAUFLER (1975):

Vergleichende Untersuchungen der einphasigen und zweiphasigen Verdünnung des Ebersamens und seine Auswirkungen auf die Trächtigkeitsergebnisse.

Züchtungskunde 47, 303-310

KATZ, D.F. and J.W. OVERSTREET (1981):

Sperm motility assessment by videomicrography.

Fert. Steril. 35, 188-193

LEIDL, W., P. RIEMKE und Iris SCHRÖPPEL (1987):

Computergesteuerte Videomikrographie-Auswertung zur Bestimmung der Spermienmotilität am Modell des Bullen.

Dtsch. tierärztl. Wschr. 94, 461-464

MAKLER, A. (1979):

Simultaneous differentiation between motile, non-motile and dead human spermatozoa by combining supravital staining and multiple exposure photography procedures.

Int. J. Androl. 2, 32-42

MAKLER, A. (1980):

The improved ten-micrometer chamber for rapid sperm count and motility evaluation.

Fert. Steril. 33, 337-338

MASSANYI, L. (1977):

Telerecording record of spermatozoa.

Fol. Morphol. 15, 119-120

MATHUR, S., M. CARLTON, J. ZIEGLER, P.F. RUST and H.O.

WILLIAMSON (1986):

A computerized sperm motion analysis.

Fert. Steril. 46, 484-488

MEUER, A., W. WEMHEUER und S. PAUFLER (1986):

Einfluß der Anzahl Spermien je Besamungsportion und der Doppelbesamung auf das Befruchtungsergebnis bei der KB des Schweines.

Vortragsveranstaltung: Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung 20.-21. Februar 1986 in Gießen

MUDRA, A. (1958):

Statistische Methoden für Landwirtschaftliche Versuche.

Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg

MÜLLER, E. und G. BRANDL (1975):

Untersuchungen über die Motilität und Morphologie von Eberspermatozoen.

Dtsch. tierärztl. Wschr. 82, 153-155

NORUSIS, M.J. (1988):

SPSS/PC+™ V2.0 Base Manual.

SPSS INC., Chicago

O'CONNOR, M.T., R.P. AMANN and R.G. SAAKE (1981):

Comparison of computer evaluations of spermatozoal motility with standard laboratory tests and their use for predicting fertility.

J. Anim. Sci. 53, 1368-1376

RASCH, D. (1987):

Biometrie-Einführung in die Biostatistik.

Harri Deutsch Verlag, Thun

SCHRÖPPEL, I. (1988):

Untersuchung der Motilität von Spermien einiger Haustierarten mit einem Computer-Videomikrographie-Verfahren.

Vet. med. Diss., München

SCHUBÖ, W. und H.-M. UEHLINGER (1986):

SPSS* Handbuch der Programmversion 2.2.

Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York

SHIMIZU, H. and G. MATSUMOTO (1977):

Light scattering study on motile spermatozoa.

IEEE Trans. bio med. Eng. BME 24,153-157

SIMMET, L. (1974):

Zur Technik der Samengewinnung und -verpackung beim Schwein.

Der Tierzüchter 26, 102-106

RIEMKE, P. (1984):

Untersuchungen zur Motilitäts- und Geschwindigkeitsmessung von Bullenspermien mit Hilfe der Videomikrographie.

Vet. med. Diss., München

UEHLINGER, H.-M., H. BAUER, D. OLBERG (1988):

SPSS/PC+ Benutzerhandbuch Band 1.

Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York

WALKER, J.S., H. WINET and M. FREUND (1982):

A comparison of subjective and objective sperm motility evaluation.

J. Androl. 3, 184-192

WEBER, E. (1964):

Grundriss der biologischen Statistik.

VEB Gustav Fischer Verlag, Jena

WEBER, A., F. FISCHERLEITNER und E. MÜLLER (1980):

Quantitative Untersuchungen über Motilitätsmerkmale von Eberspermatozoen.

Zuchthyg. 15, 145-153

Herrn Professor Dr. W. Leidl gilt mein besonderer Dank für die Überlassung des Themas und die jederzeit gewährte Unterstützung bei der Bearbeitung dieser Fragestellung.

Bei Herrn Dr. J. Braun möchte ich mich herzlich für seinen Rat und seine freundliche Unterstützung bedanken.

Bei Herrn Professor Dr. Dr. K. Osterkorn, Institut für Tierzucht der Universität München, bedanke ich mich für die Beratung und Hilfe bei der Bewältigung der statistischen Auswertung.

Allen Kolleginnen und Kollegen am Oberwiesenfeld danke ich für die Hilfe bei der Fertigstellung meiner Arbeit.

Ebenso bedanken möchte ich mich bei der Arbeitsgemeinschaft der Besamungsstationen in Bayern für die Finanzielle Unterstützung und bei den Leitern und Mitarbeitern der Besamungsstationen, ohne deren Mitarbeit diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre:

Schweineprüf- und Besamungsstation Oberbayern-Schwaben e.V.

8859 Bergheim b. Neuburg/Donau

Geschäftsführer und Technischer Leiter:

Dr. B. Kruff

Besamungsverein Neustadt a.d. Aisch e.V.

8530 Neustadt/Aisch

Geschäftsführer und Fachtechnischer Leiter:

Ltd. Dir. Dr. R. Hahn

Niederbayerische Besamungsgenossenschaft

Landshut - Pocking e.G.

8300 Landshut

Geschäftsführer und Technischer Leiter:

Ltd. Dir. Dr. R. Aumüller

Lebenslauf

Persönliches: Kai Hagen Reibenwein
geboren am 9.11.1959 in Nürnberg

Eltern: Ludwig Reibenwein
Marga Reibenwein

Schulbildung: 1966-1970 Grundschule Roth
1970-1979 Gymnasium Roth

Erwerbstätigkeit: 1979-1980 Fa. Virnich Modellbau

Studium: 1980-1986 an der Ludwig-Maximilians-
Universität München, Studium der Tiermedizin

Abschluß: 1986 Approbation
seit 1.10.1986 Anfertigung vorliegender
Arbeit
seit 1.9.1988 wissenschaftlicher Mitarbeiter
an der Gynäkologischen und Ambulatorischen
Tierklinik der LMU-München

